

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



Análise de Vinhos Monocastas por FT-ICR-MS

Mónica Isabel Marau Soeiro

Mestrado em Química
Especialização em Química

Dissertação orientada por:
Doutora Ana Patrícia dos Santos Marques
Doutor Carlos Alberto Alves Cordeiro

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao laboratório de FT-ICR-MS e Espectrometria de Massa Estrutural por ter sido tão bem recebida para a realização deste trabalho. Em especial aos meus orientadores a Professora Doutora Ana Marques e o Professor Doutor Carlos Cordeiro por todo o apoio prestado, pela amizade e pela transmissão de um rol de conhecimentos. Agradeço ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária – INIAV (Polo Dois Portos), pelo fornecimento dos vinhos monocastas e pela disponibilidade demonstrada. Agradeço aos meus colegas do grupo pela ajuda e pelo bom ambiente criado. Agradeço aos restantes professores doutores do grupo por toda a ajuda dada e pelos conhecimentos transmitidos. Por fim, mas não menos importante, agradeço aos meus queridos pais por todo o apoio ao longo da vida e em especial nestes dois últimos anos e por todos os valores transmitidos. Agradeço ao meu namorado pelo apoio e por todo o carinho.

A todos os referidos o meu mais sincero obrigado!

Trabalho apoiado pelo projeto FCT PTDC / BAA-MOL / 28675/2017, pela Rede Portuguesa de Espectrometria de Massa (LISBOA-01-0145-FEDER-022125), e pelo Projeto EU_FT-ICR_MS, financiado pela investigação Europa and Union's Horizon 2020 e programa de inovação ao abrigo da convenção de subvenção nº 731077

Resumo

O vinho é uma mistura de composição química extremamente complexa, resultando da fermentação de uvas por leveduras nomeadamente *Saccharomyces cerevisiae*. A análise deste tipo de amostras é um dos maiores desafios da química analítica que tem impacto na qualidade de produção e na avaliação da autenticidade sendo que são usadas maioritariamente métodos analíticos convencionais (NMR, cromatográficos e hifenados) que são muito morosos e permitem identificar um reduzido número de compostos. A análise de amostras complexas de uma forma completa num curto espaço de tempo e o desenvolvimento e a implementação de metodologias analíticas que o possibilitem, é um dos objectivos promissores na química analítica dos dias de hoje e que levam à elevada procura de conhecimento e à descoberta de soluções.

Os principais objectivos deste trabalho foram, em primeiro lugar, a análise e caracterização do perfil químico de vinhos monocastas utilizando uma técnica analítica muito precisa e eficaz para a caracterização de vinhos, a espectrometria de massa de ressonância ciclotrónica de íão com transformada de *Fourier* – FT-ICR-MS. O segundo, a quantificação de catequinas em vinhos monocastas e em folhas de videiras por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com dois detectores: fluorescência e matriz de díodos.

Foram analisados vinhos monocastas de diferentes anos, brancos e tintos, fornecidos pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. – INIAV (Polo dois Portos). Estes vinhos foram produzidos sob condições controladas e diferentes anos de produção (2015-2018). As amostras de vinhos monocastas foram preparadas por diluição em MeOH. Cada amostra analisada continha padrão interno, *Leucina Enkephalin*. As amostras foram posteriormente analisadas por FT-ICR-MS por infusão directa por *electrospray* em modo positivo, sendo efectuados 3 replicados de cada amostra de vinho. Para as amostras de vinho branco o número de possíveis compostos determinados variou entre 1187 e 11882 e para as amostras de vinho tinto o número de compostos variou entre 1957 e 13591. Após a análise pelo DataAnalysis a lista de picos foi submetida ao portal MassTRIX por forma a identificar a presença de alguns compostos químicos nos vinhos monocastas. Pelo MassTRIX obtiveram-se um número de compostos na ordem das centenas. Foi observado que também o vinho verde 2018 (777 compostos) e o vinho verde 2015 (844 compostos) apresentam maior número de compostos (réplicas 1) tal como verificado pelo *software* DataAnalysis. Após a identificação do número de compostos realizaram-se diagramas de Van Krevelen que permitiu visualizar a existência de regiões com maior densidade de compostos identificados. Os compostos identificados (exemplo: sorbitol, ácido propiónico, ácido benzoico, cumarina e kaempferol-3-glucuronida-7-sulfato) pertencem maioritariamente à classe dos lípidos e dos hidrocarbonetos condensados. Comparando os dois tipos de vinhos monocastas, os vinhos tintos apresentam um maior número de compostos identificados em relação aos vinhos brancos. Desta maneira foi possível a caracterização do perfil químico de vinhos monocastas, num tempo de análise curto e com preparação de amostra extremamente simples, recorrendo espectrometria de massa FT-ICR-MS.

Para a análise de catequinas nos vinhos foi desenvolvida um método de análise por HPLC, adequado a vinhos e folhas de videira que permitiu identificar e quantificar estes importantes compostos. Após a preparação das amostras foi necessário optimizar o método de trabalho por

forma a ser possível obter as condições óptimas à separação das várias catequinas numa mistura e a visualização e identificação das mesmas no cromatograma. Após todos os testes decidiu-se apenas trabalhar com as catequinas: catequina, epicatequina e epigallocatequina. Para a quantificação de catequinas foi necessário criar curvas de calibração usando-se uma mistura dos padrões de catequinas que foram injectados no HPLC. Após a criação das curvas de calibração e através das equações da recta da C e EC quantificaram-se todos os vinhos monocastas e as videiras. Concluiu-se que a C está presente em maior quantidade do que a EC em todas as amostras de vinhos monocastas e de videiras.

Os objectivos deste trabalho foram cumpridos concluindo-se que através das técnicas usadas e com recurso a todo o *software* foi possível criar um trabalho que permitiu de forma completa a caracterização do perfil químico de uma amostra muito complexa como o vinho e a quantificação de um composto muito presente neste tipo de amostras e que servem de inspiração a estudos futuros.

Palavras-Chave

Vinhos Monocastas; Videiras; Catequinas; FT-ICR-MS; HPLC

Abstract

Wine is a mixture of extremely complex chemical composition, resulting from the fermentation of grapes by yeasts namely *Saccharomyces cerevisiae*. The analysis of this type of samples is one of the biggest challenges of analytical chemistry that has an impact on the quality of production and on the evaluation of authenticity. number of compounds. The analysis of complex samples in a complete way in a short time and the development and implementation of analytical methodologies that make it possible, is one of the promising objectives in today's analytical chemistry and that leads to the high demand for knowledge and discovery of solutions.

The main objectives of this work were, in the first place, the analysis and characterization of the chemical profile of monovarietal wines using a very precise and effective analytical technique for the characterization of wines, the mass spectrometry of cyclotronic ion resonance with Fourier transform - FT -ICR-MS. The second, the quantification of catechins in monovarietal wines and grape leaves by high performance liquid chromatography (HPLC) with two detectors: fluorescence and diode matrix.

Monovarietal wines of different years, white and red, provided by the National Institute for Agricultural and Veterinary Research, I. P. - INIAV (Polo two Port), were analyzed. These wines were produced under controlled conditions and different years of production (2015-2018). Samples of monovarietal wines were prepared by dilution in MeOH. Each sample analyzed contained an internal standard, Leucine Enkephalin. The samples were subsequently analyzed by FT-ICR-MS by direct positive electrospray infusion, with 3 replicates of each wine sample. For white wine samples the number of possible compounds determined varied between 1187 and 11882 and for red wine samples the number of compounds varied between 1957 and 13591. After analysis by DataAnalysis the list of peaks was submitted to the MassTRIX portal to identify the presence of some chemical compounds in monovarietal wines. MassTRIX obtained hundreds of compounds. It was also observed that the verdelho wine 2018 (777 compounds) and the verdelho red wine 2015 (844 compounds) have a higher number of compounds (replicas 1) as verified by the DataAnalysis software. After identifying the number of compounds, Van Krevelen diagrams were made, which allowed visualizing the existence of regions with a higher density of identified compounds. The identified compounds (example: sorbitol, propionic acid, benzoic acid, coumarin and kaempferol-3-glucuronide-7-sulfate) belong mainly to the class of condensed lipids and hydrocarbons. Comparing the two types of monovarietal wines, red wines have a greater number of compounds identified compared to white wines. In this way it was possible to characterize the chemical profile of monovarietal wines, in a short analysis time and with extremely simple sample preparation, using FT-ICR-MS mass spectrometry.

For the analysis of catechins in wines, an HPLC analysis method was developed, suitable for wines and grape leaves that allowed to identify and quantify these important compounds. After preparing the samples, it was necessary to optimize the working method in order to obtain the optimum conditions for the separation of the various catechins in a mixture and the visualization and identification of them in the chromatogram. After all the tests, it was decided to work only with catechins: catechins, epicatechins and epigallocatechins. For the quantification of catechins it was necessary to create calibration curves using a mixture of the catechin standards that were injected on the HPLC. After the creation of the calibration curves and through the equations of the C and EC straight line, all mono-wines and vines were quantified. It was concluded that C is present in greater quantity than EC in all samples of mono-wine and grapevines.

The objectives of this work were fulfilled concluding that through the techniques used and using all the software it was possible to create a work that completely allowed the characterization of the chemical profile of a very complex sample such as wine and the quantification of a compound very present in this type of samples and that serve as inspiration for future studies.

Keywords:

Monovarietal Wines; Grapevines; Catechins; FT-ICR-MS; HPLC

Índice Geral	
Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract	IV
Índice de Tabelas	VIII
Índice de Figuras.....	IX
Índice de Gráficos	X
Índice de Equações.....	XI
Abreviaturas.....	XII
Capítulo I.....	
Introdução	
O Vinho	1
Vinhos Monocastas VS Vinhos Multicastas	1
Regiões Vitivinícolas de Portugal	2
Composição Química dos Vinhos	4
Catequinas	4
Técnicas Analíticas	7
Capítulo II.....	
Perfil Químico de Vinhos Monocastas	
Parte Experimental	10
Reagentes e Material biológico:	10
Preparação de Amostras:	11
Equipamento:	11
Análise de Dados:	11
Resultados e Discussão	13
Introdução e análise de amostras de vinho monocastas:	13
Identificação de compostos presentes em vinhos monocastas	14
Capítulo III.....	
Quantificação de Catequinas em Vinhos Monocastas e Videiras.....	
Parte Experimental	27

Reagentes e Material biológico:	27
Preparação de Amostras:	28
Equipamento:	29
Análise de Dados:	30
Resultados e Discussão	32
Optimização do método	32
Construção de curvas de calibração para as catequinas	32
Quantificação de catequinas nas amostras de vinhos monocasta	34
Quantificação das catequinas nas amostras de videiras	37
Conclusões.....	41
Bibliografia.....	42
Capítulo IV.....	
Anexos	
Anexo A – Compostos Identificados para o Portal MassTRIX	46
Anexo B – Quantificação de Catequinas	79
Quantificação de cada catequina a vários volumes	79
Quantificação de catequinas em videiras	79
Anexo C – Determinação da concentração de catequinas em vinhos monocastas	80
Anexo D – Determinação da concentração de catequinas em videiras	83

Índice de Tabelas

Tabela 1.1: Castas mais utilizadas na produção de vinho em Portugal ^[2]	3
Tabela 2.2: Vinhos monocastas brancos e tintos de vários anos de produção.....	10
Tabela 2.2: Número de picos identificados para cada réplica de cada amostra de vinho usando o <i>software</i> DataAnalysis	13
Tabela 2.3: Número de compostos identificados para cada réplica de cada amostra de vinho utilizando o portal MassTRIX. Com um rectângulo a vermelho estão seleccionadas as réplicas 1 de cada amostra de vinho	14
Tabela 2.4: Comparação do número de compostos identificados através da função <i>compare jobs</i> no portal MassTRIX para as amostras de vinhos monocastas (réplica 1)	15
Tabela 2.5: Número de compostos diferentes para cada tipo de vinho monocasta no mesmo ano de produção	16
Tabela 2.6: Identificação de compostos nas amostras de vinho monocasta brancos e tintos	24
Tabela 3.1: Videiras utilizadas e suas abreviaturas.....	29
Tabela 3.2: Condições de gradiente utilizado na análise por HPLC	30
Tabela 3.3: Área e tempo de retenção das várias catequinas para a construção da curva de calibração	31
Tabela 3.4: Quantificação das catequinas em vinhos brancos monocastas.....	35
Tabela 3.5: Quantificação das catequinas em vinhos tintos monocastas	36
Tabela 3.6: Quantificação de catequinas em videiras.....	39
Tabela 4.1: Compostos identificados pelo portal MassTRIX para a amostra de vinho branco Verdelho 2017 (réplica 1).....	46
Tabela 4.2: Quantificação de catequinas em vinhos brancos monocastas (replicados)	80
Tabela 4.3: Quantificação de catequinas em vinhos tintos monocastas (replicados).....	82
Tabela 4.4: Quantificação de catequinas em videiras (replicados)	83

Índice de Figuras

Figura 1.1: DOP e IGP na Região de Portugal ^[1]	2
Figura 1.2: Estrutura de (+)-Catequina ^[10]	5
Figura 1.3: Estrutura de (-)-Epicatequina ^[14]	5
Figura 1.4: Estrutura de (-)-Epigallocatequina ^[15]	5
Figura 1.5: Estrutura de (-)-Epicatequina galato ^[16]	6
Figura 1.6: Estrutura de (-)-Epigallocatequina galato ^[17]	6
Figura 2.1: Espectro de massa da amostra de vinho tinto, verdeiro 2015 (réplica 1). No eixo das ordenadas está representada a intensidade ($\times 10^9$), no eixo das abcissas o valor de m/z . No gráfico está destacado, com um rectângulo, a <i>Leucine Enkephalin</i>	22
Figura 2.2: Espectro de massa da amostra de vinho branco verdeiro 2018 (réplica 1). No eixo das ordenadas está representada a intensidade ($\times 10^9$), no eixo das abcissas o valor de m/z . No gráfico está destacado, com um rectângulo, a <i>Leucine Enkephalin</i>	22
Figura 3.1: Cromatograma da amostra de vinho branco 2017 (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se as unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC	34
Figura 3.2: Cromatograma da amostra de vinho tinto 2017 (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas observa-se o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC	35
Figura 3.3: Cromatograma da videira Fernão Pires (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas observa-se o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC	37
Figura 3.4: Cromatograma da videiras C19 (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas observa-se o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC.....	38
Figura 3.5: Cromatograma da videira Chambourcin (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas observa-se o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC	38

Índice de Gráficos

Gráfico 1.1: Área ocupada de vinha em Portugal/ha ^[2]	3
Gráfico 2.1: Diagrama de Van Krevelen típico ^[20]	18
Gráfico 2.2: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco ano 2018 (réplica 1)	18
Gráfico 2.3: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco ano 2017 (réplicas 1)	19
Gráfico 2.4: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco ano 2016 (réplicas 1)	19
Gráfico 2.5: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho tinto ano 2017 (réplicas 1)	20
Gráfico 2.6: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco e tinto ano 2017 (réplicas 1)	21
Gráfico 3.1: Curva de calibração da catequina (C)	32
Gráfico 3.2: Curva de calibração da epicatequina (EC)	33

Índice de Equações

Equação 3.1: Equação da curva de calibração da catequina.....	33
Equação 3.2: Equação da curva de calibração da epicatequina	33

Abreviaturas

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*

C – Catequina

EC – Epicatequina

EGC – Epigallocatequina,

ECG – Epicatequina Galato

EGCG – Epigallocatequina Galato

LC-MS – Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massa

RMN – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

FT-ICR-MS – Espectrometria de Massa de Ressonância Ciclônica de Íon por Transformada de Fourier

DOP – Denominação de Origem Protegida

IGP – Indicações Geográficas Protegidas

ha – Hectare

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

GD 18 – Galego Dourado 2018

GD 17 – Galego Dourado 2017

GD 16 – Galego Dourado 2016

M 18 – Malvasia 2018

M 17 – Malvasia 2017

M 16 – Malvasia 2016

V 18 – Verdelho 2018

V 17 – Verdelho 2017

V 16 – Verdelho 2016

VT 17 – Verdelho Tinto 2017

VT 16 – Verdelho Tinto 2016

VT 15 – Verdelho Tinto 2015

TG 18 – Tinta Grossa 2018

TG 17 – Tinta Grossa 2017

MeOH – Metanol

µl – Microlitro

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

m/z – Razão massa/carga

Da – Dalton

ppm – Partes por milhão

KEGG – *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*

HMBD – *The Human Metabolic Pathway Database*

LipidMaps – *Lipidomics Gateway*

DAD – Detector de Rede de Díodos

ESI – Ionização por *Electrospray*

nm – Nanómetros

ARA – Aragonês

ART – Arinto

CF – Cabernet Franc

CS – Cabernet Sauvignon

FP – Fernão Pires

PN – Pinot Noir

REG – Regent

RS – Riesling

SB – Sauvignon Blanc

TN – Touriga Nacional

TRI – Trincadeira

C19 – C19

SYL F – sylvestris Female

SYL M – sylvestris Male

CHAM – Chambourcin

JPB – July Pearle B

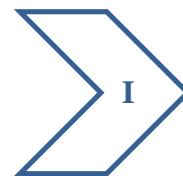
ROT – Muscadinia Rotundifolia Michaux Var

RIP – Riparia Gloire de Montpellier

RV – Rupestris du Lot

BER – *vitis* Berlandieri Planchon

CAN – *vitis* Candicans Engelmann



Capítulo I

Introdução



O Vinho

O vinho é uma bebida alcoólica produzida por um processo de fermentação total ou parcial da uva. Este tipo de fermentação é realizado por vários tipos de leveduras que transformam o açúcar naturalmente presente nas uvas em álcool ^[1]. Este tipo de fermentação é denominada de fermentação alcoólica e consiste na degradação dos açúcares da uva em ambiente anaeróbio levando à produção de álcool etílico e de dióxido de carbono. As leveduras utilizadas neste tipo de fermentação podem ser de diferentes espécies sendo que a mais prevalente é *Saccharomyces cerevisiae* ^[2]. A produção de vinhos carece necessariamente da utilização de uvas e conforme a variedade de uvas e das leveduras utilizadas podem ser produzidos diferentes tipos de vinhos. Existem cinco tipos de vinhos: vinhos tintos, vinhos brancos, vinhos rosés, espumantes e vinhos fortificados. O vinho branco e tinto são vinhos produzidos a partir de uvas brancas e tintas respectivamente. O vinho rosé é um vinho normalmente produzido pela mistura de uvas brancas com uvas tintas. O espumante é um tipo de vinho que sofre um segundo passo de fermentação que ocorre em ambiente fechado (por exemplo no interior da garrafa) por forma a torna-lo um vinho com maior teor de dióxido de carbono proveniente deste segundo passo de fermentação. A produção de vinhos fortificados já é um pouco diferente das anteriormente referidas pelo facto de na produção do vinho ser adicionado aguardente e interrompido o processo de fermentação alcoólica. Deste modo o vinho fortificado adquire uma percentagem de etanol mais elevada e sabores mais adocicados. Como exemplos destes vinhos temos, os tão conhecidos e apreciados pelo mundo inteiro, vinho do Porto e vinho da Madeira ^[1]. Os tipos de uvas utilizadas possibilitam a formação de vinhos com características únicas e díspares. No entanto, também necessário ter em conta factores ambientais como as condições de humidade e temperatura a que as uvas estão sujeitas, as propriedades do solo onde estas uvas estão inseridas e os microorganismos presentes nos solos ou na água ^[1]. As videiras utilizadas para a produção de vinho e que possuem características comuns são denominadas castas ou variedade e conforme o local onde estão inseridas originam vinhos distintos e com características únicas. Os vinhos produzidos e comercializados nos dias de hoje podem resultar na combinação de maioritariamente uma só casta (varietal ou monocasta) ou na mistura de várias castas diferentes (corte).

Vinhos Monocastas VS Vinhos Multicastas

O vinho monocasta é um vinho produzido a partir de um único tipo de casta ou em que esta casta tenha uma percentagem muito elevada (75% a 90%). O vinho de corte é um vinho produzido a partir da mistura de duas ou mais castas. Comercialmente, os vinhos mais comuns são os vinhos de corte pois são utilizados diferentes tipos de castas para a obtenção de vinhos com sabores mais agradáveis, de produção mais económica e com características únicas que só podem ser obtidas com mistura de várias castas ^[2]. Mais recentemente vários produtores têm investido na produção de vinhos monocastas por dizerem ser vinhos mais ricos, que permitem detectar as características únicas de cada casta, são vinhos de maior dificuldade de obtenção mas com um retorno económico mais valorizado. Devido à dificuldade de produção estes vinhos quando chegam ao mercado são duas a três vezes mais caros que os vinhos de corte. O estudo do perfil químico dos vinhos monocastas é algo que suscita interesse, mas que de ainda não existem muitas publicações sobre o mesmo a nível mundial.

Regiões Vitivinícolas de Portugal

A localização geográfica de Portugal e aos diferentes *terroir* existentes fazem com que o território português seja rico na produção de vinhos com diferentes características. A produção de vinho em Portugal pode ser feita a partir de métodos de vinificação tradicionais, como o pisar das uvas em lagares ou do uso de meios tecnológicos com uso de máquinas de pisagem de uvas e separação do sumo e da pele da uva.

Portugal possui 31 denominações de origem protegida - DOP (Designação comunitária adoptada para identificar os vinhos com Denominação de Origem, aos quais é conferida protecção nos termos estabelecidos na regulamentação e que integram um registo comunitário único. (Regulamento (CE) nº 479/2008 do Conselho, de 29 de Abril) ^[2] e 14 indicações geográficas protegidas – IGP (Nome geográfico que designa um produto originários desse local ou região que possui características associadas à sua região) ^[2]. Tal pode ser observado na figura seguinte (figura 1.1)

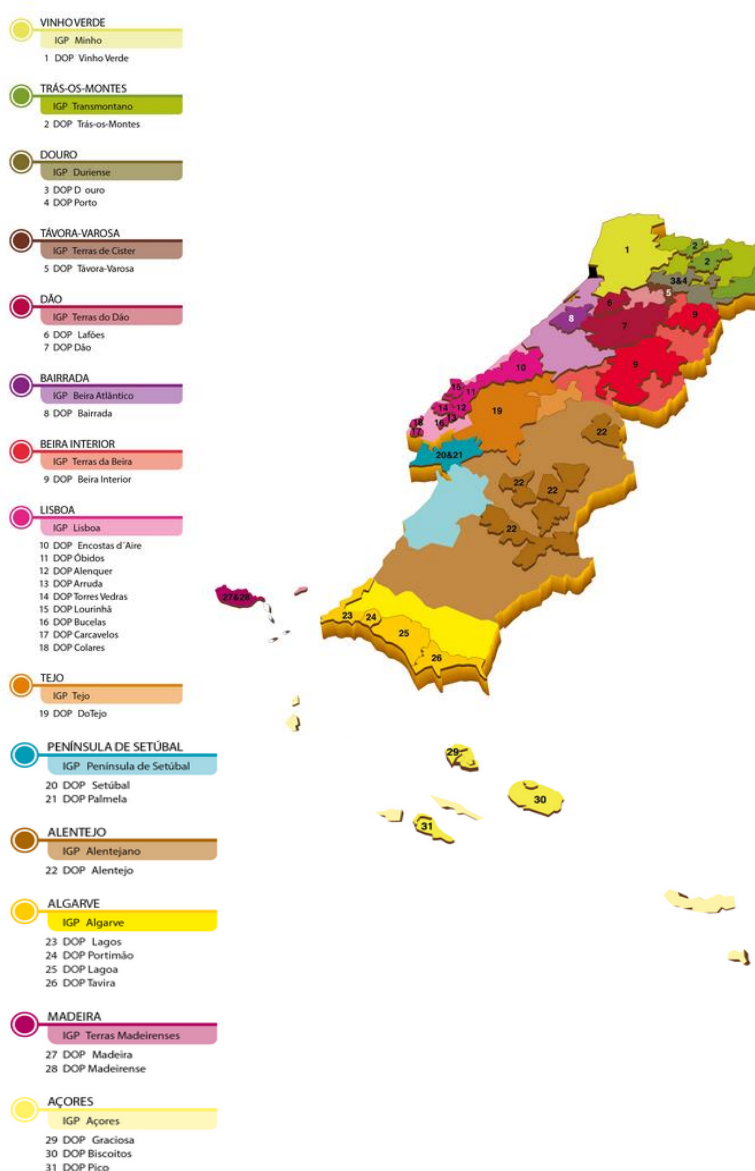


Figura 1.1: DOP e IGP na Região de Portugal ^[1]

Um dos bilhetes de identidade de Portugal é a dieta mediterrânica que é baseada no consumo de produtos da terra como hortícolas e leguminosas, frutas e legumes da época, pão e cereais pouco refinados, azeite como principal gordura, lacticínios e consumo preferencial de peixe e carne não vermelhas. Este tipo de dieta em conjunto com o convívio à volta da mesa, hábito que os portugueses apreciam e que ainda é prática comum nos dias de hoje, incentivam o consumo moderado de vinho. Em Portugal, a produção e consumo de vinho tem um grande impacto na economia levando a que a área de plantação de vinhas seja elevada ^[2]. O balanço dos cinco anos (2015-2019) pode ser consultado no **gráfico 1.1**.

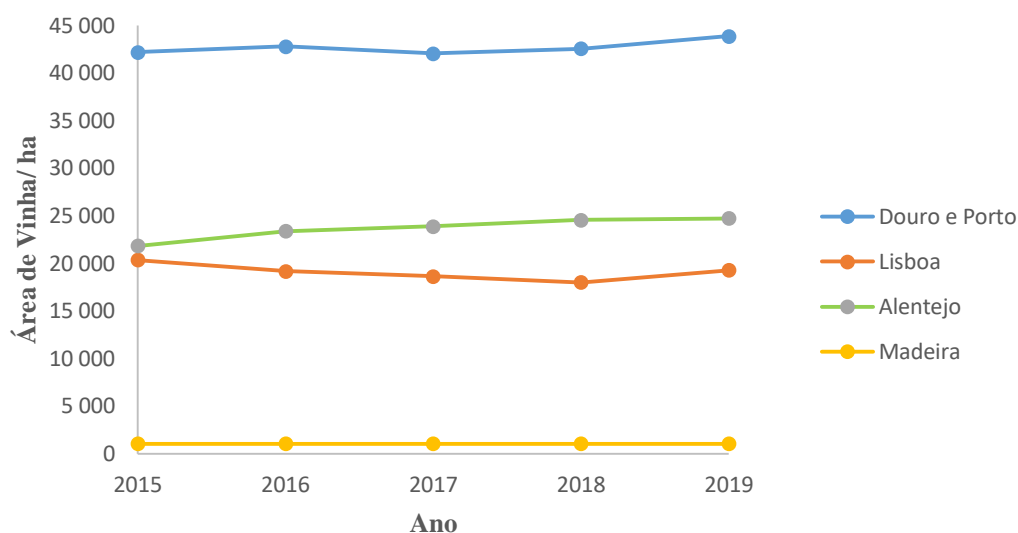


Gráfico 1.1: Área ocupada de vinha em Portugal/ha ^[2]

As castas mais utilizadas na produção de vinho tinto e branco em Portugal podem ser observadas na **tabela 1.1**. É importante também referir que de uma forma geral, a área de vinha é muito superior para as castas utilizadas na produção de vinho tinto do que na produção de vinho branco.

Tabela 1.1: Castas mais utilizadas na produção de vinho em Portugal ^[2]

Tipo de vinho	Castas mais utilizadas em Portugal	Área/ha	%
Tinto	Aragonez / Tinta Roriz / Tempranillo	20.884,00	11%
	Touriga Franca	13.445,00	7%
	Touriga Nacional	13.032,00	7%
	Castelão / João de Santarém / Periquita	9.130,00	5%
	Trincadeira / Tinta Amarela / Trincadeira Preta	8.413,00	4%
Branco	Fernão Pires / Maria Gomes	12.052,00	6%
	Loureiro	5.851,00	3%
	Arinto / Pedernã	5.778,00	3%
	Síria / Roupeiro / Códaga	5.431,00	3%
	Alicante Bouschet	4.888,00	3%

Composição Química dos Vinhos

Todos os vinhos produzidos e comercializados são feitos a partir de videiras *Vitis vinífera* responsáveis pela produção de vinho de mesa. Este facto torna esta espécie a mais cultivada e a de maior importância económica em todo o mundo. O estudo da composição química das uvas e das folhas da videira é algo que tem despertado grande interesse na indústria alimentar e em particular na indústria vinícola pois associa-se a combinação dos compostos químicos presentes nas uvas e a influência das características organolépticas ao corpo de um vinho, isto é, aos aromas e sabores associados aquando a aquisição do produto final ^[3]. Os vinhos e as videiras possuem milhares de diferentes compostos podendo ser identificados mais de 800 compostos voláteis nos vinhos ^[4]. Nos vinhos podem ser encontradas várias classes de compostos como por exemplo álcoois, ésteres, aldeídos, ácidos orgânicos, fenóis, lípidos, hidratos de carbono, entre outros ^[5,6]. Sabe-se que muitos destes compostos encontrados no vinho estão presentes na própria uva mas podem ter influência das condições ambientais a que as uvas e as videiras estão sujeitas (clima, tipo de solo, etc), da própria idade da videira ou podem ser resultantes do processo de formação do vinho como por exemplo da fermentação alcoólica a que este está sujeito ^[7,8]. A análise e o estudo de todos estes factores são peça chave para a obtenção de vinhos com as características organolépticas desejadas seja pelo produtor seja pelo consumidor e por isso, nos dias de hoje, existem inúmeros estudos acerca da composição química dos vinhos e dos benefícios do consumo desta matriz biológica (por exemplo a protecção contra doenças cardiovasculares devido à existência de vários antioxidantes presentes no vinho). Alguns compostos presentes nos vinhos possuem protegem contra doenças cardiovasculares pois possuem elevada capacidade antioxidante e que como é o caso das catequinas. Estudos recentes identificaram a presença de catequinas em videiras. As catequinas são compostos pertencentes à família dos flavonóides, isto é, compostos polifenólicos constituídos por dois anéis de benzeno ligados a um heterociclo de pirano e por grupos hidroxilo no carbono-3 ^[9].

Catequinas

As catequinas têm a seguinte designação IUPAC: (2*S*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2*H*-chromene-3,5,7-triol e fórmula molecular: C₁₅H₁₄O₆. São incolores e parcialmente solúveis em água ^[10] e podem ser encontradas naturalmente em diversos alimentos como folhas de chá, sementes e plantas como videiras e cacau ^[11]. Para além da elevada capacidade antioxidante, as catequinas também apresentam capacidade anti-obesidade e antibacteriana ^[12,13] e por isso estão associadas à protecção do cérebro contra doenças como Alzheimer ou Parkinson, na diminuição de doenças cardiovasculares e na prevenção do cancro.

Na **figura 1.2** mostra-se a estrutura de (+)-catequina.

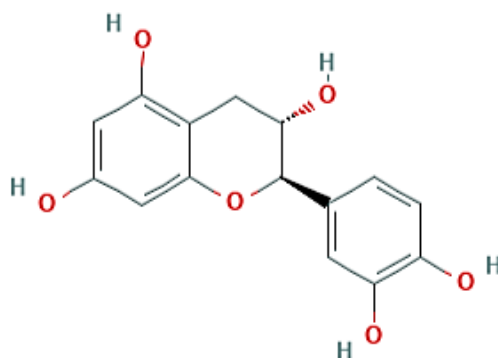


Figura 1.2: Estrutura de (+)-Catequina ^[10]

As catequinas apresentam cinco derivados primários de elevada importância para a saúde humana tais como: (+) Catequina, C, (-)-Epicatequina, EC, (-)-Epigallocatequina, EGC, (-)-Epicatequina Galato, ECG, , e (-)- Epigallocatequina galato, ECGG. As representações esquemáticas das mesmas são apresentadas nas figuras abaixo (**figuras 1.3, 1.4, 1.5 e 1.6**).

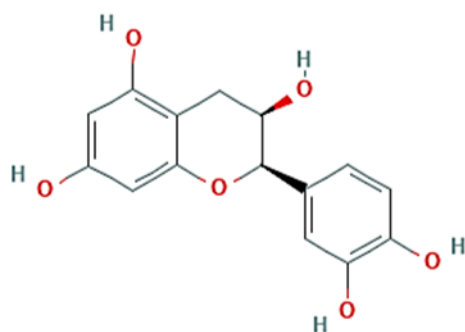


Figura 1.3: Estrutura de (-)-Epicatequina ^[14]

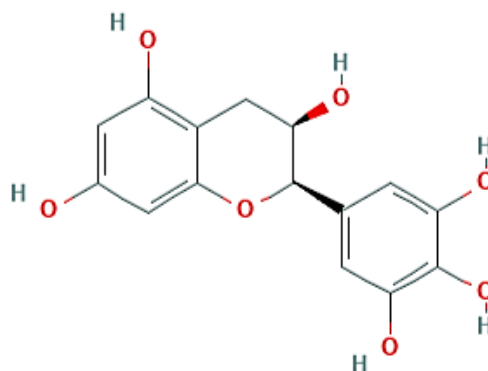


Figura 1.4: Estrutura de (-)-Epigallocatequina ^[15]

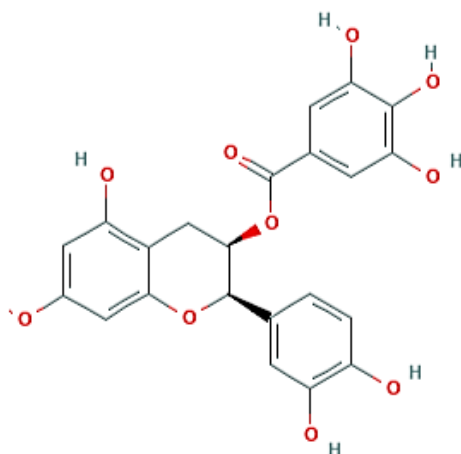


Figura 1.5: Estrutura de (-)-Epicatequina galato ^[16]

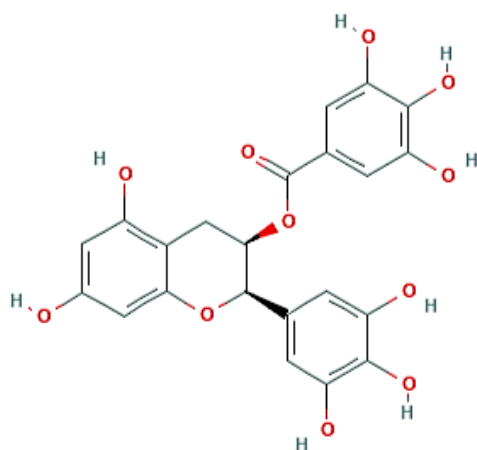


Figura 1.6: Estrutura de (-)-Epigallocatequina galato ^[17]

Os derivados da catequina apresentam propriedades antioxidantes que permite a eliminação de radicais livre de oxigénio. As características destes compostos fazem com que os mesmos sejam possíveis candidatos a fármacos sendo alvo de vários estudos que levam à descoberta de alimentos com valores elevados de catequinas para serem introduzidos em maior escala na alimentação humana ^[12]

Pela presença deste composto em diversos alimentos, as catequinas são um alvo de muito interesse na comunidade científica. Muitos dos estudos consistem na própria identificação e quantificação de catequinas nos vários alimentos ou plantas. Grande parte dos estudos são realizadas com recurso à técnica de HPLC. Os autores Neilson, Green, *et al*, ^[18] utilizaram varias amostras de chá com o intuito de quantificar as catequinas, usaram para o efeito um HPLC com um detector de DAD e conseguiram separar uma mistura de catequinas com um sinal no entanto baixo. Concluíram que foi possível esta quantificação e que a concentração de catequinas no chá variava conforme o tipo de chá.

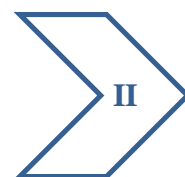
Estando as catequinas tão presentes em plantas, o estudo do perfil químico nomeadamente de catequinas e o estudo da sua função em cada organismo tem levado a um grande interesse. Foi o que fizeram os autores Maia, Ferreira, Nascimento, *et al*, ^[19] que tentaram identificar biomarcadores de resistência/susceptibilidade analisando o perfil metabólico de diferentes espécies de videiras utilizando a técnica de FT-ICR-MS. Concluíram que foi possível identificar vários compostos possíveis de serem biomarcadores contra patogénicos entre os quais se destacam a catequina e a epicatequina.

Técnicas Analíticas

Ao longo dos anos têm sido usadas várias técnicas analíticas para a análise e caracterização de vinhos e videiras. Têm sido desenvolvidas técnicas cujas amostras não necessitam de grande preparação prévia, com tempo de análise mais reduzido e que permitam a identificação de um elevado número de compostos. Actualmente são mais usadas as técnicas de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS), a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e mais recentemente a técnica de espectrometria de massa de ressonância ciclotrónica de íão com transformada de Fourier (FT-ICR-MS).

Muitos autores ao longo dos tempos identificaram compostos em amostras de vinho utilizando diversas técnicas analíticas conforme o propósito pretendido. Utilizaram técnicas cromatográficas (HPLC e GC) isoladamente e estas acopladas à espectrometria de massa (HPLC-MS). Segundo os autores Sagratini, Maggi, *et al* ^[3] é possível utilizar a técnica de HPLC por injeção directa para identificar compostos fenólicos como ácido gálico, (+)-catequina, (-)-epicatequina, ácido cafeico, resveratrol, entre outros e a técnica de GC-MS para identificação de compostos voláteis como hexanol, 2-metil-1-propanol, dietil succinato, ácido palmítico, entre outros concluindo que é possível a caracterização do perfil aromático de vinhos monocastas e a quantificação de compostos fenólicos. Neste artigo compararam dois vinhos produzidos a partir da mesma casta de diferentes regiões geográficas e concluíram que apresentavam diferenças no perfil dos compostos voláteis e no número de compostos polifenólicos, verificaram também uma elevada presença de uma classe de compostos – álcoois. Assumem que a composição do solo e as condições climáticas têm um importante papel na composição química dos vinhos monocastas. Alguns autores como Cooper e Marshall ^[7] optam por analisar vinhos utilizando a espectrometria de massa de extrema resolução e elevada sensibilidade – FT-ICR-MS – com o intuito de analisar um elevado número de compostos num curto espaço de tempo e com maior precisão na análise. Segundo estes autores, utilizando os modos positivo e negativo, é possível identificar diversos compostos de classes como antocianinas, taninos, compostos fenólicos, flavonoides, hidratos de carbono, entre outros. Alguns compostos identificados como esculina, cabinol, flavanol, ácido cinâmico, entre outros e organizados pelas suas classes de compostos. Concluíram que a técnica de FT-ICR-MS é uma técnica incomparável para análise de misturas de vinhos pois foram analisados diversos compostos sem necessidade de grande preparação prévia, separação ou purificação das amostras. Consideraram também o modo negativo como o mais correcto para a análise deste tipo de matrizes.

O trabalho desenvolvido nesta dissertação possui dois grandes objectivos. Em primeiro lugar a análise e caracterização do perfil químico de vinhos monocastas por espectrometria de massa de ressonância ciclotrónica de ião com transformada de *Fourier* (FT-ICR-MS) que consiste na identificação de alguns compostos presentes em amostras de vinhos monocastas do tipo branco e do tipo tinto. O foco desta componente do trabalho passa pela identificação de compostos comuns aos dois tipos de vinho, de compostos diferentes nestas mesmas amostras e na identificação da presença ou ausência de alguns compostos encontrados na literatura de vinhos. Em segundo lugar a análise de catequinas em vinhos monocastas e videiras por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Aqui o grande foco é a identificação da presença de catequinas em vinhos monocastas e em videiras e a sua quantificação.



Capítulo II

Perfil Químico de Vinhos Monocastas



Neste capítulo II, intitulado de perfil químico de vinhos monocastas, abordou-se a caracterização do perfil químico de vinhos monocastas, vinhos produzidos a partir de uma só casta. Para esta caracterização utilizou-se uma técnica muito usada para a caracterização de amostras de forma completa, eficaz e precisa. A técnica aqui utilizada foi FT-ICR-MS, técnica que possibilita a identificação de um elevado número de moléculas presentes nas amostras e que possui inúmeras vantagens pois tem elevada sensibilidade, exactidão de massa e resolução permitindo o estudo de amostras muito complexas (ex. vinho) e a análise de compostos com elevada massa molecular (ex. proteínas) ^[20].

No FT-ICR-MS, os iões são gerados em fase gasosa, em modo positivo, utilizando uma fonte ESI que permite a ejeção destes até ao analisador de massa de resolução extrema que separa os iões pela sua razão massa-carga (m/z). Posteriormente, o detector de massa amplifica o sinal detectado, transforma-o sob a acção de transformada de *Fourier* (transforma a corrente iónica em corrente eléctrica) e processa-o na forma de espectro de massa que depois é registado pelo computador.

Parte Experimental

Reagentes e Material biológico:

As amostras biológicas usadas foram vinhos monocasta, tintos e brancos, fornecidos pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P. – INIAV (Polo dois Portos). Os vinhos foram sob condições controladas e são de vários anos de produção. Na **tabela 2.1** identificam-se os vinhos usados.

Tabela 2.1: Vinhos monocastas brancos e tintos de vários anos de produção

Tipo de Vinho	Nome do Vinho	Ano de Produção	Abreviaturas
Branco	Galego Dourado	2018	GD 18
	Malvasia		M 18
	Verdelho		V 18
	Galego Dourado	2017	GD 17
	Malvasia		M 17
	Verdelho		V 17
	Galego Dourado	2016	GD 16
	Malvasia		M 16
	Verdelho		V 16
Tinto	Verdelho Tinto	2017	VT 17
	Tinta Grossa		TG 17
	Verdelho Tinto	2016	VT 16
	Verdelho Tinto	2015	VT 15
	Tinta Grossa	2018	TG 18

Os vinhos monocastas encontravam-se enrolhados em garrafas de 75 cl que foram abertas na altura da preparação das amostras. Após a abertura de cada garrafa, o vinho foi colocado em 3 frascos de vidro. Dois dos frascos foram guardados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para uso futuro e um foi utilizado de imediato. As amostras foram preparadas por diluição em MeOH, ($\geq 99,9\%$ *LiChrosolv*[®] *Hypergrade* para LC-MS) com adição de padrão interno, *Leucine Enkephalin acetate salt hydrate*, ($\geq 95\%$ para HPLC, Sigma-Aldrich, EUA) que foi previamente diluída com água Milli-Q, Millipore, (*Milli-Q*[®] *Gradient*, Alemanha).

Preparação de Amostras:

As amostras foram preparadas por diluição na razão 1:100 (v/v). A um *eppendorf* foram adicionados 10 μl de vinho a 1000 μl de MeOH e 0,5 μl de padrão interno (0,1 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), *Leucine Enkephalin*. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas. É de salientar a importância da adição de padrão interno pois esta funciona como calibrante interno do espectrómetro de massa. Sabendo que a *Leucine Enkephalin* apresenta $[\text{M}+\text{H}]^{+} = 556,27657\text{ Da}$ e é possível a identificação da sua presença em todas as amostras de vinho.

Equipamento:

O equipamento utilizado foi um espectrómetro de massa *Brüker Solarix XR* (*Brüker*, Alemanha), com magnete de 7 Tesla e fonte de ionização *electrospray* (ESI). As análises foram feitas em modo positivo e no intervalo de m/z de 100 a 3000. Cada amostra de vinho foi analisada três vezes – réplicas técnicas.

Análise de Dados:

Os resultados obtidos através do FT-ICR-MS foram analisados pelo *software* *DataAnalysis 5.0* (*Brüker Compass*, Alemanha). Recorreu-se ao *software* *DataAnalysis* de maneira a analisar-se o número de picos identificados e por conseguinte, recorrendo ao uso de uma função denominada *smart formula*, exportaram-se os dados de composição elementar. A partir destes dados foi possível construir um diagrama de Van Krevelen. A construção destes diagramas teve por base a selecção de vários parâmetros importantes como o desvio de 1 ppm, o padrão isotópico e o padrão isotópico fino de cada átomo que ocorrem segundo uma ordem de prioridade atómica.

A ordem referida é a seguinte:



Legenda:

- ❖ C – Átomo de carbono
- ❖ H – Átomo de hidrogénio
- ❖ O – Átomo de oxigénio
- ❖ N – Átomo de azoto
- ❖ S – Átomo de enxofre

É de salientar que as formas de composição elementar são calculadas com base num algoritmo proprietário do fabricante do *software* DataAnalysis (Brüker Compass, Alemanha). Este algoritmo tem em conta o desvio m/z e a distribuição isotópica fina.

Posteriormente, para a identificação dos compostos químicos recorreu-se ao portal MassTRIX 3ª versão (*HelmholtzZentrum München*, Alemanha) ^[21].

A extensa lista de valores de m/z obtidos pelo *software* DataAnalysis foi submetida ao portal MassTRIX de maneira a permitir a identificação dos compostos presentes nas várias amostras de vinhos monocastas brancos e tintos. No portal foram colocados os valores de m/z e a sua intensidade e selecionados alguns parâmetros como: o modo de ionização (positivo) os aductos: K^+ , Na^+ , o desvio máximo de 1 ppm, a análise sem isótopos e as bases de dados públicas: KEGG, HMDB e LipidMAPS.

O portal MassTRIX realiza as análises apoiadas nas páginas de dados metabólicos em espectrometria de massa e sua interpretação tendo em conta o contexto genómico do organismo em estudo utilizando para o efeito as bases de dados seguidamente descritas:

KEGG – *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*. A base de dados KEGG possibilita a compreensão de funções do sistema biológico (célula, organismo e ecossistema) a partir de informações de nível molecular. Permite analisar um inúmero conjunto de dados moleculares gerados pelo sequenciamento do genoma ^[22]

HMDB – *The Human Metabolome Database*. HMDB é uma base de dados de acesso gratuito que contém informações pormenorizadas sobre metabolitos e pequenas moléculas presentes no corpo humano. Esta base permite analisar dados químicos, dados clínicos e dados biológicos, contendo cerca de 114.100 metabolitos muitos ou pouco abundantes ^[23]

LipidMAPS – *Lipidomics Gateway*. LipidMAPS ou LMSD é uma base de dados focada na análise de lípidos. Abrange estruturas e anotações de lípidos biologicamente relevantes. Permite o acesso a nomenclatura lipídica, protocolos, padrões, tutoriais, reuniões, publicações, entre outros recursos ^[24]

Resultados e Discussão

Introdução e análise de amostras de vinho monocastas:

Após a preparação, as amostras foram injectadas directamente na fonte de ESI. As amostras de vinho branco que foram primeiro analisadas, seguidas das amostras de vinho tinto. Tal ordem deve-se ao facto de existir menor número de compostos no vinho branco do que no vinho tinto. Todas as amostras foram injectadas em triplicado e apenas em modo positivo. A análise em modo positivo prende-se com o facto de haver maior número de compostos pois no caso dos vinhos existe uma maior facilidade de protonação devido à acidez dos mesmos. Após a aquisição dos espectros de massa estes foram extraídos pelo *software* DataAnalysis versão 5.0 obtendo-se uma extensa lista de valores de m/z . Tal pode ser observado na **tabela 2.2**.

Tabela 2.2: Número de picos identificados para cada réplica de cada amostra de vinho usando o *software* DataAnalysis

Tipo de Vinho	Vinho Monocasta	Réplicas	Número de Picos
Branco	Galego Dourado 2018	1	2941
		2	2968
		3	3130
	Galego Dourado 2017	1	2287
		2	2259
		3	2245
	Galego Dourado 2016	1	3364
		2	2908
		3	3471
	Malvasia 2018	1	10064
		2	10727
		3	8920
	Malvasia 2017	1	8710
		2	6826
		3	2406
	Malvasia 2016	1	4070
		2	3390
		3	2517
	Verdelho 2018	1	11882
		2	8280
		3	7960
	Verdelho 2017	1	4058
		2	5277
		3	5952
	Verdelho 2016	1	5990
		2	7894
		3	1187
	Tinta Grossa 2018	1	6933
		2	6547
		3	6341
	Tinta Grossa 2017	1	1957
		2	2121
		3	2546

Tinto	Verdelho Tinto 2017	1	7865
		2	8141
		3	8374
	Verdelho Tinto 2016	1	12487
		2	12771
		3	12387
	Verdelho Tinto 2015	1	13505
		2	13591
		3	12462

A **tabela 2.2** permite observar algumas discrepâncias entre as várias réplicas. Também permite observar que as amostras de vinho branco e vinho tinto apresentam sensivelmente o mesmo número de compostos (2000 a 13600).

Identificação de compostos presentes em vinhos monocastas

Depois da obtenção dos dados pelo *software* DataAnalysis, a extensa lista de valores de m/z foi submetida ao portal MassTRIX de maneira a permitir a identificação dos compostos presentes nas várias amostras de vinhos monocasta brancos e tintos.

As análises foram realizadas para cada uma das três réplicas de cada amostra de vinho. Obtiveram-se os resultados apresentados na **tabela 2.3**.

Tabela 2.3: Número de compostos identificados para cada réplica de cada amostra de vinho utilizando o portal MassTRIX. Com um rectângulo a vermelho estão seleccionadas as réplicas 1 de cada amostra de vinho

Tipo de Vinho	Vinhos Monocasta	Ano de Produção	Réplicas	Número de Compostos Identificados
Branco	Galego Dourado	2018	1	175
			2	177
			3	187
		2017	1	138
			2	135
			3	127
		2016	1	217
			2	154
			3	194
	Malvasia	2018	1	642
			2	675
			3	579
		2017	1	523
			2	458
			3	156
		2016	1	277
			2	232
			3	168
		2018	1	777
			2	533

	Verdelho	2017	3	527
			1	284
			2	375
		2016	3	425
			1	405
			2	528
			3	87
Tinto	Tinta Grossa	2018	1	353
			2	339
			3	335
		2017	1	111
			2	125
			3	144
	Verdelho Tinto	2017	1	457
			2	463
			3	469
		2016	1	749
			2	763
			3	766
		2015	1	844
			2	849
			3	845

Observando a **tabela 2.3**, o vinho verde 2018 é o vinho branco onde foram identificados mais compostos e o vinho galego dourado 2017 é o que apresenta menor número de compostos. Analisando os vinhos tintos, o vinho verde tinto 2015 é o vinho com maior número de compostos em oposição ao vinho tinta grossa 2017 que apresenta o menor número de compostos.

Selecionaram-se as primeiras réplicas (réplica 1) de cada um dos vinhos monocastas por forma a tratar os resultados obtidos comparando os vários compostos identificados utilizando a função de *compare jobs* existente no portal MassTRIX. A comparação foi realizada por tipo de vinho e ano de produção, por exemplo, selecionaram-se os vinhos galego dourado 2018, malvasia 2018 e verde 2018 e obtiveram-se os dados do *compare jobs* para esse ano. Foi possível identificar o número de compostos que estão apenas presentes em cada uma das castas de cada ano. O número de compostos identificados é apresentado na **tabela 2.4**.

Tabela 2.4: Comparação do número de compostos identificados através da função *compare jobs* no portal MassTRIX para as amostras de vinhos monocastas (réplica 1)

Tipo de Vinho	Vinho Monocasta	Ano de Produção	Número de Compostos Identificados
	Galego Dourado	2018	88
	Malvasia		94
	Verdelho		105

Branco	Galego Dourado	2017	62
	Malvasia		94
	Verdelho		102
	Galego Dourado	2016	89
	Malvasia		98
	Verdelho		100
Tinto	Tinta Grossa	2017	94
	Verdelho Tinto		49

Analisando a **tabela 2.4** é possível inferir que nos vinhos brancos, o número de compostos obtidos para cada ano é bastante similar à exceção do vinho galego dourado 2017. Em relação ao vinho tinto apenas foi possível comparar o ano 2017 visto que os restantes vinhos eram de anos distintos. O vinho tinta grossa é mais rico em compostos do que o vinho verdelho tinto, apresentando quase o dobro. Comparando os vinhos pelo seu tipo verifica-se que o vinho branco apresenta maior número de compostos do que o vinho tinto e tal facto pode ser devido à diferente natureza química dos vinhos produzidos.

Após a observação do número de compostos identificados determinou-se o número de compostos diferentes entre cada tipo de vinho, isto é, a diferença do número de compostos entre duas castas do mesmo ano de produção (**tabela 2.5**).

Tabela 2.5: Número de compostos diferentes para cada tipo de vinho monocasta no mesmo ano de produção

Tipo de Vinho	Vinho Monocasta	Ano de Produção	Número de Compostos Diferentes
	Galego Dourado	2018	6
	Malvasia		
	Malvasia		11
	Verdelho		
	Galego Dourado		17
	Verdelho		
	Galego Dourado	31	
	Malvasia		

Branco	Malvasia	2017	12
	Verdelho		
	Galego Dourado		43
	Verdelho		
	Galego Dourado	2016	21
	Malvasia		
	Malvasia		2
	Verdelho		
	Galego Dourado		20
	Verdelho		
Tinto	Tinta Grossa	2017	45
	Verdelho Tinto		

Analisando a **tabela 2.5** é possível inferir que nos vinhos brancos os vinhos, galego dourado 2017 e verdelho 2017 são os que apresentam maior número de compostos diferentes (43). Os vinhos malvasia 2016 e verdelho 2016 apenas apresentam 2 compostos diferentes. Observando as duas amostras de vinho tinto analisadas infere-se que estas apresentam 45 compostos diferentes.

Antes de proceder à análise dos diagramas de Van Krevelen é importante visualizar um diagrama típico como o descrito no **gráfico 2.1**.

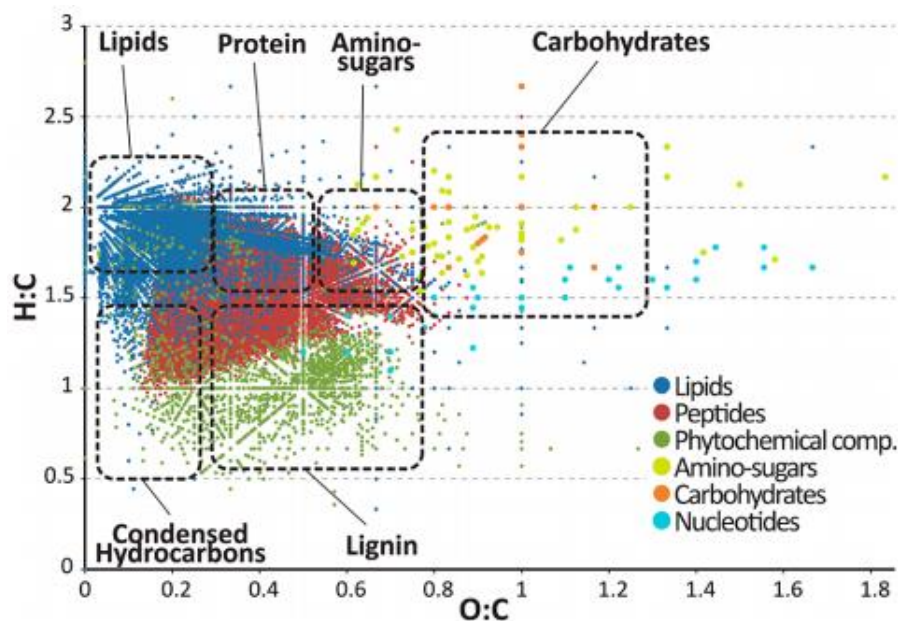


Gráfico 2.1: Diagrama de Van Krevelen típico [25]

Procedeu-se à determinação das composições elementares de cada réplica de cada amostra de vinhos e de seguida realizou-se um diagrama de Van Krevelen, isto é, um gráfico de H/C em função de O/C. Para a elaboração deste gráfico dividiu-se a composição elementar do átomo de H pelo átomo de C e a do átomo de O pelo átomo de C.

Obtiveram-se os seguintes gráficos para os vinhos monocasta:

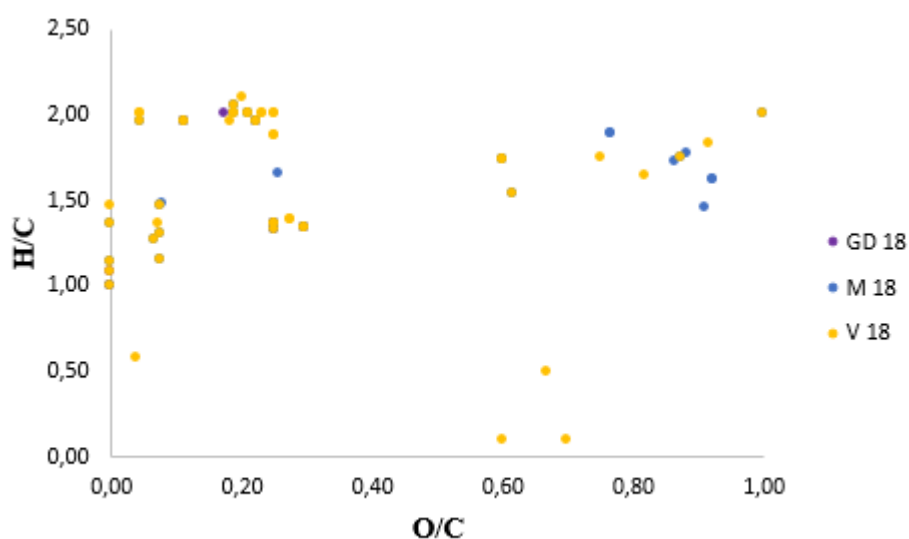


Gráfico 2.2: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco ano 2018 (réplica 1)

No **gráfico 2.2** é possível verificar que a amostra de vinho branco verdeelho 2018 apresenta um maior número de compostos agrupados que as restantes amostras de vinho.

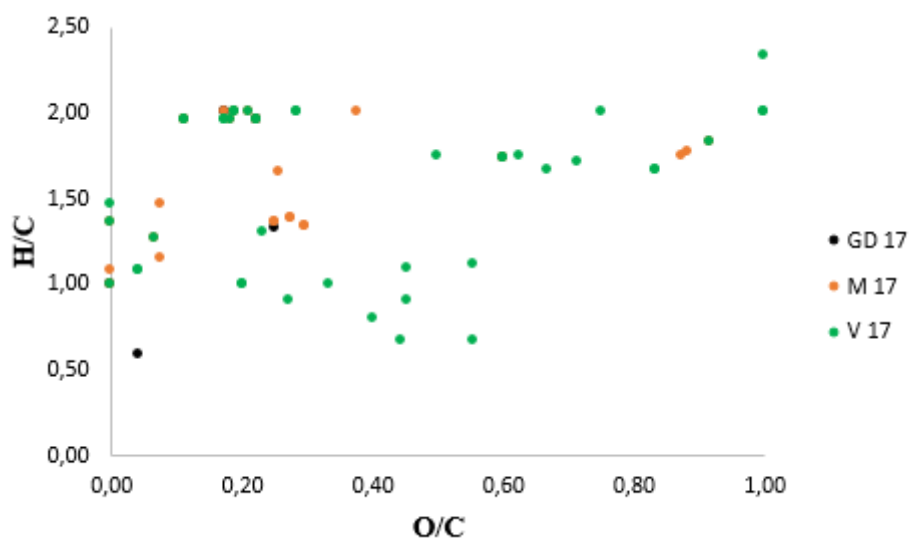


Gráfico 2.3: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco ano 2017 (réplicas 1)

O **gráfico 2.3** indica as amostras de vinho branco no ano 2017 e nele é possível observar que, tal como aconteceu com o vinho verdeelho 2018, o vinho verdeelho 2017 apresenta maior número de compostos agrupados que os restantes.

No **gráfico 2.4** mostra-se o diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco do ano de 2016.

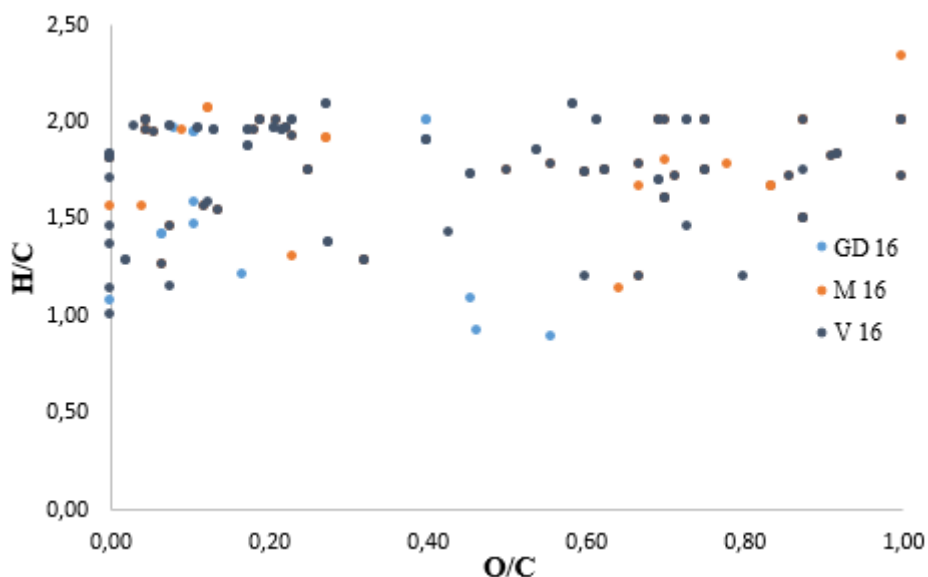


Gráfico 2.4: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco ano 2016 (réplicas 1)

Mais uma vez verifica-se, após consulta do **gráfico 2.4**, que o vinho branco verdejo 2016 apresenta mais compostos agrupados que os vinhos galego dourado 2016 e malvasia 2016.

Conclui-se, pela visualização dos **gráficos 2.3, 2.3 e 2.4** que o vinho verdejo é mais rico do que os restantes e que as amostras de vinho em estudo são amostras que possuem vários tipos de compostos.

Realizou-se um diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho tinto cujo ano de produção fosse o mesmo e desta maneira realizou-se o diagrama para as amostras do ano de 2017.

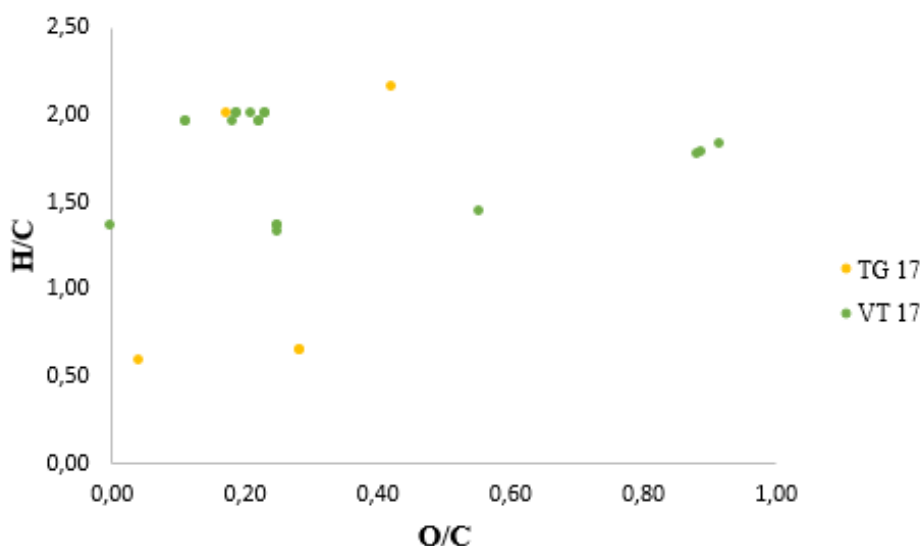


Gráfico 2.5: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho tinto ano 2017 (réplicas 1)

A amostra de vinho tinto verdejo tinto 2017 é mais rica do que a amostra tinta grossa 2017 apresentando um maior número de compostos agrupados.

Sendo o ano 2017 de produção comum aos vinhos brancos e tintos elaborou-se um diagrama com todos os vinhos brancos e tintos (**gráfico 2.6**).

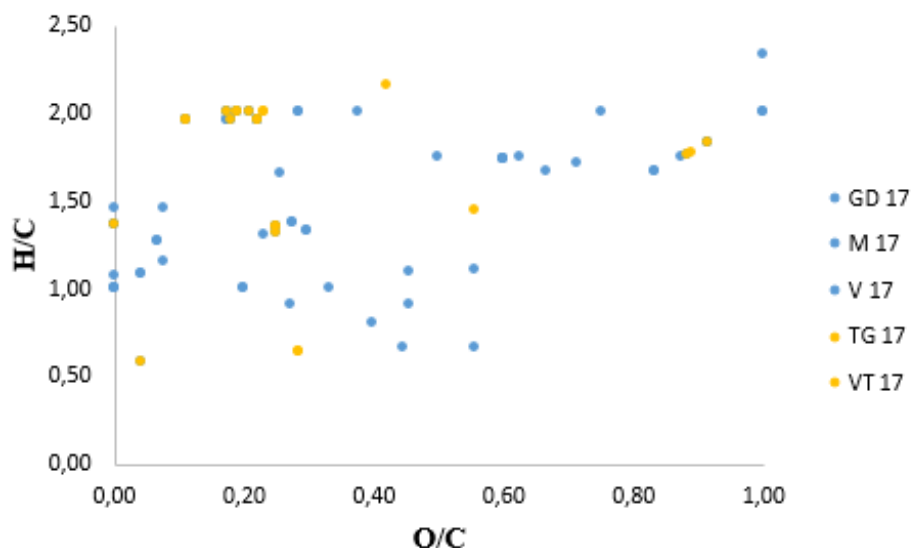


Gráfico 2.6: Representação do diagrama de Van Krevelen para as amostras de vinho branco e tinto ano 2017 (réplicas 1)

Analisando o gráfico acima, infere-se que existem maior número de compostos comuns para as amostras de vinho branco do que para as amostras de vinho tinto no ano de 2017.

A elaboração dos diagramas de Van Krevelen permite identificar visualmente se os compostos apresentam regiões com maior densidade de compostos. A maioria dos compostos encontram-se entre 0,00 e 2,00 para o eixo H/C pois tratando-se de uma matriz biológica é o valor que faz sentido a existência de grupos CH_2 , se o limite máximo fosse 3,00 existiriam muitos grupos CH_3 o que é pouco provável devido à sua capacidade de sintetização ser mais diminuída por ser um sistema biológico. O mesmo comportamento aconteceria para limite de 4,00. No eixo O/C, a maioria dos compostos estão entre 0,00 e 1,00 pois a razão carbono é superior à razão oxigénio e por conseguinte sabe-se que não existem mais de 2 átomos de oxigénio por átomo de carbono.

Seguidamente, identificaram-se alguns compostos presentes nas várias amostras de vinho nos espectros obtidos. As amostras escolhidas foram as que apresentavam maior número de compostos identificados. Seleccionaram-se as réplicas 1 das amostras verdeelho 2018 (vinho branco) e verdeelho tinto 2015 (vinho tinto).

É de referir a identificação do pico do padrão interno, *Leucine Enkephalin* cujo valor de m/z em modo positivo é 556,27657.

É possível visualizar os espectros de massa das amostras verdeelho 2018 e verdeelho tinto 2015 nas figuras abaixo, **figura 2.1** e **figura 2.2** respectivamente.

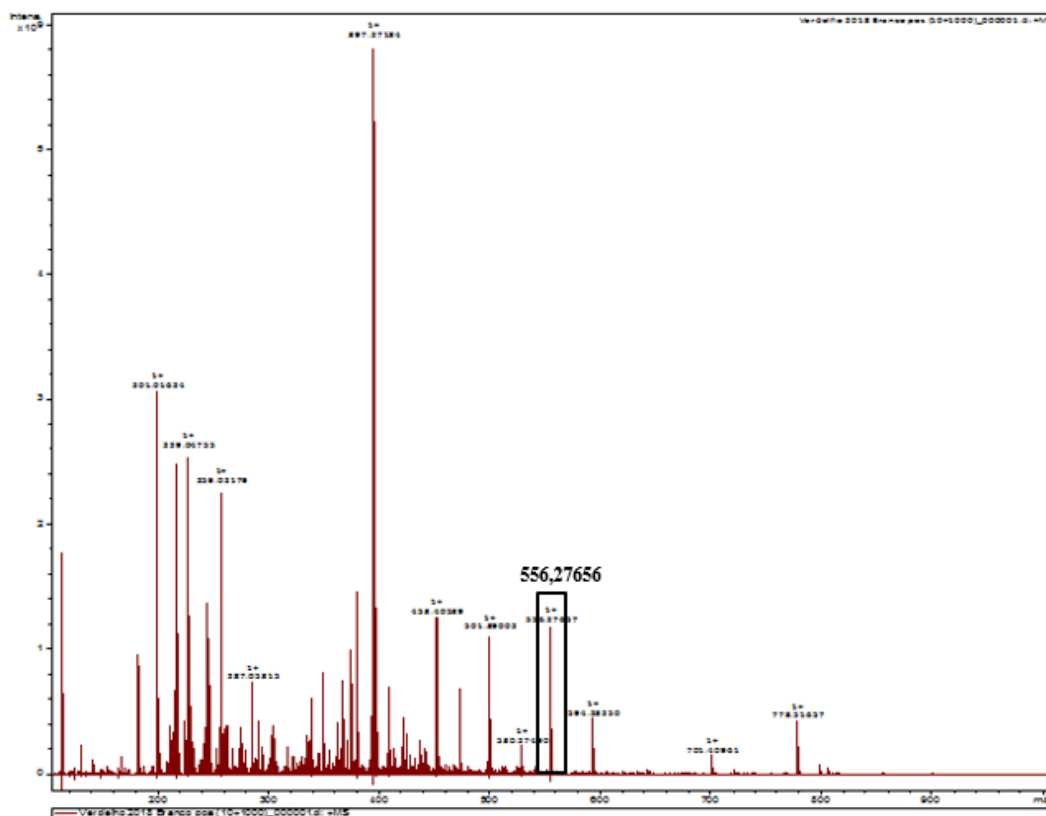


Figura 2.1: Espectro de massa da amostra de vinho branco verdejo 2018 (réplica 1). No eixo das ordenadas está representada a intensidade ($\times 10^9$), no eixo das abcissas o valor de m/z . No gráfico está destacado, com um retângulo, a *Leucine Enkephalin*

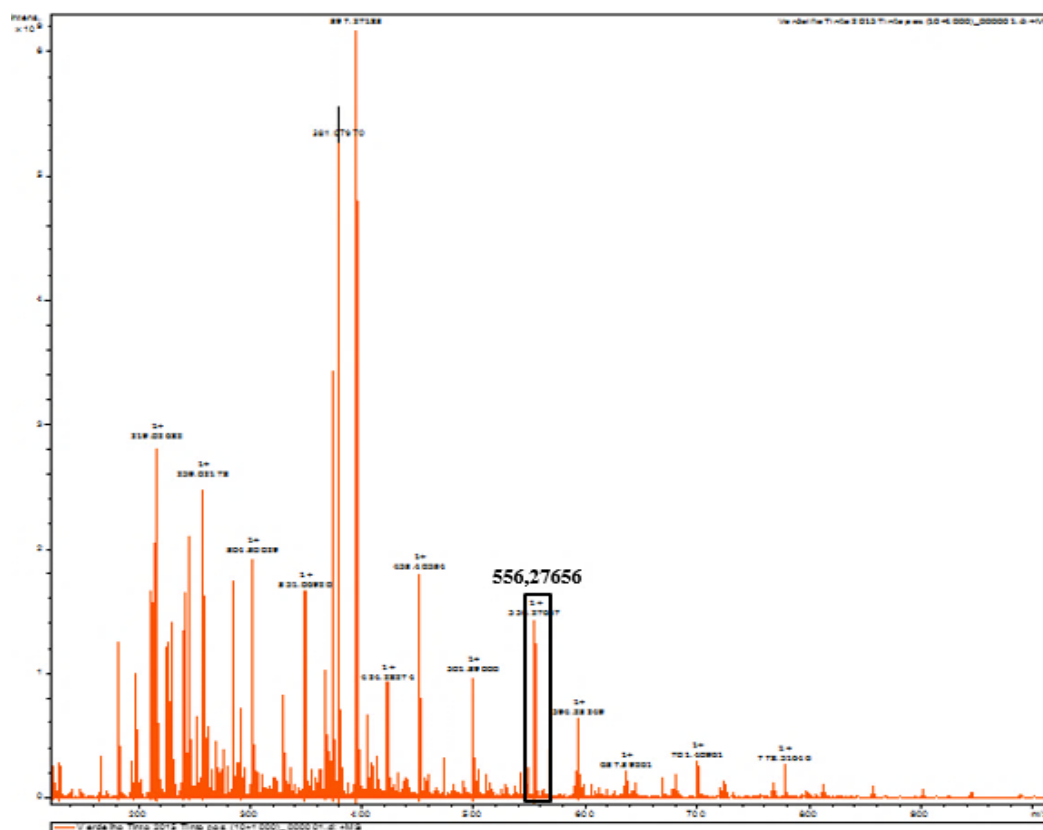


Figura 2.2: Espectro de massa da amostra de vinho tinto, verdejo 2015 (réplica 1). No eixo das ordenadas está representada a intensidade ($\times 10^9$), no eixo das abcissas o valor de m/z . No gráfico está destacado, com um retângulo, a *Leucine Enkephalin*

Alguns dos compostos identificados nas amostras de vinho, estão descritos na literatura como presentes em vinho tinto e vinho branco ^[26].

O **sorbitol** ou também chamado de glicitol é um edulcorante, álcool de açúcar, naturalmente presente em futas como uvas, ameixas e maçãs. Tem um poder adoçante, diurético e laxante. Este apresenta 60% da actividade adoçante da sacarose sendo por isso usado como substituto do açúcar ^[27]. Apresenta m/z $[M+K]^+ = 221,2683$ e fórmula molecular $C_6H_{14}O$.

O **ácido propiónico** é um ácido volátil nos vinhos e desempenha um papel importante pois a sua reacção com álcoois permite a formação de ésteres que dão complexidade aos vinhos ^[28]. Apresenta m/z $[M+K]^+ = 112,9999$ e fórmula molecular $C_3H_6O_2$

O **ácido benzoico** é um ácido carboxílico aromático que está naturalmente presente em algumas frutas e vegetais. Pode também ser produzido por microorganismos durante o processamento de alimentos. É muito usado como conservante e exibe forte actividade antimicrobiana ^[29]. Apresenta m/z $[M+K]^+ = 160,9999$ e fórmula molecular $C_7H_6O_2$

A **cumarina** é um composto aromático formado por um anel de benzeno e uma pirona. São compostos fenólicos não voláteis que estão presentes nas madeiras nomeadamente na madeira de carvalho. A cumarina é um composto com características antibacterianas e antifúngicas. Como os vinhos são guardados em barris de madeira, maioritariamente carvalho, é possível que durante a maturação do vinho este composto passe para o vinho dependendo do tipo de casta e das condições a que está sujeito. Este composto pode alterar as características organolépticas do vinho ^[30]. Apresenta m/z $[M+H]^+ = 184,9999$ e fórmula molecular $C_9H_6O_2$.

O **Kaempferol 3-glucuronida-7-sulfato** é um flavonóide que pode ser encontrado em diversos alimentos como folhas de chá, brócolos, feijões, morangos, tomates, uvas. Pode ser facilmente encontrado em plantas que apresentam propriedades medicinais como *Ginkgo biloba* ou *Moringa oleífera*. O kaempferol tem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, analgésicas, entre outras ^[31]. Apresenta m/z $[M+K]^+ = 580,9998$ e fórmula molecular $C_{21}H_{18}O_{15}S$.

Em suma, conclui-se que grande parte dos compostos presentes nas amostras de vinho são compostos aromáticos, da classe dos flavonóides, compostos estes pertencentes à classe dos metabólicos secundários de plantas ^[32, 33]. Destacam-se o kaempferol e a cumarina. É também muito fácil encontrar ácidos orgânicos como o ácido propiónico e o ácido benzoico que estão naturalmente presentes nas frutas e legumes, como as uvas. São ácidos de cadeia simples, C_4 - C_{13} e permitem ao vinho adquirir determinada cor, aroma, sabor e estabilidade microbiológica e química ^[34]. A maioria dos compostos identificados apresentam propriedades antioxidantes e antibacterianas, benéficas para a saúde humana.

No **Capítulo IV – Anexo A – Compostos Identificados pelo Portal MassTRIX** é possível verificar toda a lista de compostos identificados para a amostra de vinho branco Verdelho 2017 (réplica 1). É de salientar que alguns destes compostos são isómeros.

Após a identificação dos compostos comuns presentes nas amostras de vinho verdelho 2018 e verdelho tinto 2015 procuraram-se alguns compostos em todas as amostras de vinhos monocastas brancos e tintos tal como se mostra na **tabela 2.6**.

Tabela 2.6: Identificação de compostos nas amostras de vinho monocasta brancos e tintos

Nome dos Compostos	Fórmula Química	Amostra de Vinho	Ano de Produção	Presença/Ausência
Catecol	C ₆ H ₆ O ₂	GD	2018	✗
		M		✓
		V		✓
		GD	2017	✗
		M		✓
		V		✓
		GD	2016	✗
		M		✓
		V		✓
		VT	2017	✗
		TG		✗
		VT	2016	✓
		VT	2015	✓
		TG	2018	✗
Etil-Carfentrazone	C ₁₅ H ₁₄ C ₁₂ F ₃ N ₃ O ₃	GD	2018	✓
		M		
		V		
		GD	2017	
		M		
		V		
		GD	2016	
		M		
		V		
		VT	2017	
		TG		
		VT	2016	
		VT	2015	
TG	2018			
Ácido Cafeico	C ₈ H ₈ O ₄	GD	2018	✗
		M		
		V		
		GD	2017	
		M		
		V		
		GD	2016	
		M		
		V		
		VT	2017	
		TG		
		VT	2016	
		VT	2017	
		TG	2018	
		GD	2018	
		M		
		V		

Tiamina Trifosfato	C ₁₂ H ₂₀ N ₄ O ₁₀ P ₃ S	GD	2017	✓
		M		
		V		
		GD	2016	
		M		
		V		
		VT	2017	
		TG		
		VT	2016	
		VT	2015	
		TG	2018	

Analisando a **tabela 2.6** infere-se que o composto **catecol** está presente em todas as amostras de vinho branco, à excepção do vinho galego dourado e apenas está presente nas amostras de vinho verde tinto 2016 e 2015. Este composto pode ser encontrado naturalmente em frutas e legumes [35]

O composto **etil-carfentrazone** é possível ser encontrado em todas as amostras de vinhos monocastas brancos e tintos tal como o composto **tiamina trifosfato**. O etil-carfentrazone é um herbicida muito utilizado no controlo de pragas de plantas como videira, nas culturas de algodão e milho e da cana de açúcar. Tem uma boa acção de controlo de plantas daninhas [36] e apresenta m/z 449,9995 [M+K]⁺. A tiamina trifosfato é uma vitamina essencial para o normal funcionamento celular. Esta é comumente encontrada nos alimentos mas na forma fosforilada [37]. Apresenta m/z 528,0005 [M+Na]⁺.

O composto **ácido cafeico** não pode ser observado em nenhuma das amostras analisadas. Este composto é antioxidante e pode ser encontrado nos vinhos pois contribui para a estabilidade da cor do vinho [38].

Tal como verificado no artigo científico de Cooper e Marshall [7], neste trabalho também foram identificados vários compostos químicos que foi possível, através dos diagramas de Van Krevelen, agrupar em várias classes nomeadamente lípidos, flavonoides e hidrocarbonetos. Alguns compostos com relevância em vinhos não foram observados nas amostras em estudo tal pode dever-se ao facto de as amostras terem sido analisadas unicamente em modo positivo e segundo os autores Cooper e Marshall é relevante analisar os compostos em modo negativo. É de referir que o uso da técnica de FT-ICR-MS permitiu identificar muitos compostos numa amostra muito complexa e num curto espaço de tempo o que permite inferir que esta técnica de elevada sensibilidade e resolução é muito adequada a este tipo de amostras. O seu uso apresenta inúmeras vantagens qualidade de análise VS tempo.



Capítulo III

Quantificação de Catequinas em Vinhos Monocastas e Videiras



As catequinas são compostos presentes nas amostras de vinho e são responsáveis pelo aparecimento de um tom escuro no vinho branco e pelo sabor mais amargo em ambos os tipos de vinho ^[39]. Por supressão do sinal ou porque apenas ionizam melhor em modo negativo, estas não foram detectadas por FT-ICR-MS. Dada a sua relevância nos vinhos foi decidido detectar e quantificar as mesmas utilizando a técnica de HPLC.

A técnica de HPLC é uma técnica usada para compostos não voláteis e termolábeis que permite a separação de compostos em que as amostras são arrastadas por uma fase móvel líquida (eluentes) que é forçada a passar através de uma fase estacionária imiscível presente numa coluna. De acordo com o tipo de fases e a afinidade dos compostos para a fase móvel os compostos são separados a diferentes mobilidades. As bombas são encarregues de fazer passar um fluxo constante de fase móvel ao longo do HPLC. Após a introdução das amostras recorrendo ao uso de injectores as amostras são separadas através da coluna e os compostos são detectados por detectores que podem ser selectivos para algumas moléculas como é o caso de um detector de fluorescência (seletivo para moléculas fluoróforas). Posteriormente estes são registados por um computador sob a forma de cromatogramas.

O segundo objectivo consiste na quantificação de catequinas em vinhos monocastas utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Foi decidido identificar e quantificar as diferentes catequinas em amostras de vinho monocasta. Dada a origem destes compostos na videira, as catequinas são facilmente encontradas nas folhas de chá, videiras, sementes, entre outras ^[11], expandiu-se o método de análise a folhas de videira. Devido à situação pandémica não foi possível recolher folhas das videiras dos vinhos monocasta previamente estudados pelo que se analisou folhas de videira que se encontravam armazenadas no nosso laboratório na sequência de projectos mais alargados de análise de vinhos e videiras.

Parte Experimental

Reagentes e Material biológico:

Usaram-se 5 padrões de catequinas: (+)-*Catechin Hydrate* (> 97,0 % Tokyo Chemical Industry); (-)-*Epicatechin* (> 97,0 % Tokyo Chemical Industry); (-)-*Epigallocatechin* (> 98,0 % Tokyo Chemical Industry); (-)-*Epicatechin Gallate* (> 98,0 % Tokyo Chemical Industry) e (-)-*Epigallocatechin Gallate Hydrate* (> 98,0 % Tokyo Chemical Industry).

Os padrões foram preparados por diluição em água Milli-Q (Milli-Q[®] Gradient, Alemanha) e metanol (MeOH) (≥ 99,9 % LiChrosolv[®] Hypergrade para LC-MS).

Foram utilizadas 21 videiras que foram extraídas com MeOH (≥ 99,9 % LiChrosolv[®] Hypergrade para LC-MS) e Água milli-Q (Milli-Q[®] Gradient, Alemanha).

Os eluentes usados foram acetonitrilo (CH₃CN) (≥ 99,9 % LiChrosolv[®] Hypergrade para LC-MS) e água Milli-Q (Milli-Q[®] Gradient, Alemanha) ambos com adição de 0,1 % de ácido fórmico (CH₂O₂) (≈ 98,0 % Sigma-Aldrich para espectrometria de massa)

Preparação de Amostras:

Soluções Padrão de Catequinas

As soluções padrão de cada catequina foram preparadas de forma a obter uma concentração de 1 mM. Cada catequina foi colocada num balão de 10 ml juntamente com 5 ml de água milli-Q e num ultra-sons durante 15 minutos. De seguida, adicionou-se 2 ml de MeOH e colocou-se mais 15 min no ultra-sons. Por fim, adicionou-se 3 ml de água milli-Q e seguiu-se mais 15 min no ultra-sons. No fim do processo a catequina estava dissolvida e pronta a usar no HPLC. Seguiu-se o mesmo protocolo todas as catequinas.

Foram preparadas várias misturas das 5 catequinas de forma a não haver *overflow* do sinal do HPLC. A mistura usada foi de 300 µl de cada catequina, perfazendo um total de 1500 µl. Tal correspondia à concentração de 1mM EGC e 0,2 mM de cada uma das restantes catequinas (C, EC, ECG e EGCG).

Amostras de Vinhos Monocastas

Da mesma maneira como se procedeu para a análise de vinhos monocastas por FT-ICR-MS as amostras de vinho utilizadas encontravam-se enrolhados em garrafas de 75 cl que foram abertas na altura da preparação das amostras.

As amostras foram inicialmente diluídas em MeOH, na razão de 1:9 (v/v). A um *vial* foi adicionado 100 µl de vinho em 900 µl de MeOH e homogeneizado. No entanto, algumas amostras apresentaram picos correspondentes às catequinas com pouca intensidade logo foi necessário concentrar as mesmas. A um *vial* foi adicionado 300 µl de vinho em 700 µl de MeOH e homogeneizado. Em seguida, as amostras foram filtradas com um filtro de seringa de 4 mm 0,22 µm de acetato de celulose (red[®] analytical, EUA). Cada amostra de vinho foi analisada três vezes – réplicas técnicas.

Amostras de Videiras

As amostras de videira utilizadas tinham sido preparadas (da folha até extracto) por elementos do grupo de investigação conforme o procedimento descrito no artigo científico ^[19].

Focando a atenção na preparação dos extractos de videiras, estes foram preparados da seguinte maneira: 50 mg de amostra em 500 µl de solvente (250 µl MeOH + 250 µl água milli-Q). Após a adição dos solventes, as amostras foram homogeneizadas durante 1 minuto seguindo-se a adição a gelo durante 1 minuto, realizando-se dois ciclos. Posteriormente foram centrifugadas durante 5 minutos para ocorrer a separação de fases. Aquando a separação de fases, foi colectado o sobrenadante para um tubo de *eppendorf* e congelado a -80°C.

Antes de serem analisadas, as amostras foram filtradas utilizando um filtro de seringa de 4 mm 0,22 µm de acetato de celulose (red[®] analytical, EUA). Cada amostra de videira foi analisada três vezes – réplicas técnicas.

Na **tabela 3.1** é possível consultar as 21 videiras utilizadas na realização deste trabalho.

Tabela 3.1: Videiras utilizadas e suas abreviaturas

Nome da Videiras	Abreviaturas
Aragonêz	ARA
Arinto	ART
Cabernet Franc	CF
Cabernet Sauvignon	CS
Fernão Pires	FP
Pinot Noir	PN
Riesling	RS
Sauvignon Blanc	SB
Touriga Nacional	TN
Trincadeira	TRI
Regent	REG
C19	C19
sylvestris Female	SYL F
sylvestris Male	SYL M
Chambourcin	CHAM
July Pearle B	JPB
Muscadinia Rotundifolia Michaux	ROT
Riparia Gloire de Montpellier	RIP
Rupestris du Lot	RV
<i>vitis</i> Berlandier Planchon	BER
<i>vitis</i> Candicans Engelmann	CAN

Equipamento:

O equipamento utilizado foi um HPLC com uma bomba quaternária (Beckman Coulter, Alemanha), um injector *System Gold*® 508, um injector automático (Beckman Coulter, Alemanha) com um loop de 100 µl, uma coluna LiChrospher® 100 RP-18 (LiChroCART® 250-4 HPLC-Cartridge, Alemanha) e dois detectores: detector matriz de Díodos (DAD) *System Gold*® 168 Detector (Beckman Coulter, Alemanha) e detector de fluorescência *FP-2020 Plus, Intelligent Fluorescence Detector* (Jasco, Japão).

Condições Cromatográficas:

Modo de separação: Fase reversa

Tipo de eluição: Gradiente

Eluentes:

❖ A: Água Milli-Q + 0,1 % CH₂O₂

❖ B: CH₃CN + 0,1 % CH₂O₂

Tempo de Corrida: 40 min

Reequilíbrio: 10 min

Fluxo: 1 ml.min⁻¹

Comprimento onde medido DAD: 200 a 400 nm

Comprimento de onda medido Fluorescência: $\lambda_{\text{excitação}}$: 280 nm e $\lambda_{\text{emissão}}$: 310 nm

As condições de gradiente utilizadas estão representadas na **tabela 3.2**:

Tabela 3.2: Condições de gradiente utilizado na análise por HPLC

Tempo (min)	Módulo	Função	Valor	Duração (min)
0	Bomba	%Eluente B	20	5
5	Bomba	%Eluente B	20	5
10	Bomba	%Eluente B	90	5
15	Bomba	%Eluente B	90	5
20	Bomba	%Eluente B	10	5
30	Detector	Stop Date	-	-

Análise de Dados:

Os resultados obtidos foram analisados no *software 32 Karat, System Component*, versão 8.0 da marca *Beckman* (Alemanha).

Para a quantificação das catequinas realizou-se uma curva de calibração através da injeção de vários volumes da mistura de 5 catequinas (10 µl, 20 µl, 30 µl e 40 µl). O volume inicial utilizado foi de 200 µl independentemente do volume final. Na **tabela 3.3** é possível visualizar os resultados obtidos.

Tabela 3.3: Área e tempo de retenção das várias catequinas para a construção da curva de calibração

Volume Final: 10 µl					
Catequinas	Área	Tempo Retenção (min)	Concentração (mM)	Volume Final (µl)	Concentração (mM)
EGC *	4770	6,180	1	10	0.05
C	569227	6,823	0,2	10	0.01
EC	640607	8,240	0,2	10	0.01
Volume Final: 20 µl					
Catequinas	Área	Tempo Retenção (min)	Concentração (mM)	Volume Final (µl)	Concentração (mM)
EGC *	2038	6,178	1	20	0,10
C	1136077	6,807	0,2	20	0.02
EC	1277077	8,232	0,2	20	0.02
Volume Final: 30 µl					
Catequinas	Área	Tempo de Retenção (min)	Concentração (mM)	Volume Final (µl)	Concentração (mM)
EGC *	-	-	-	-	-
C	1840075	6,817	0,2	30	0.03
EC	2032198	8,230	0,2	30	0.03
Volume Final : 40 µl					
Catequinas	Área	Tempo Retenção (min)	Concentração (mM)	Volume Final (µl)	Concentração (mM)
EGC *	12252	6,17	1	40	0,20
C	2409223	6,842	0,2	40	0.04
EC	Overflow	-	-	-	-

.* Pico mal definido

Para a exemplificação de como foram determinadas as quantidades de cada catequina a vários volumes, consultar o **Capítulo IV – Anexo B – Quantificação de Catequinas**.

Resultados e Discussão

Optimização do método

Após a preparação das amostras foi necessário otimizar o método por forma a ser possível obter uma boa separação das várias catequinas na mistura e a sua identificação no cromatograma. Inicialmente, todos os ensaios foram realizados com apenas um único detector, DAD, e observou-se que, após várias tentativas de optimização do método, as catequinas EC e EGCG não separavam. Decidiu-se então acoplar outro detector, fluorescência, pois algumas catequinas apresentavam fluorescência por serem moléculas com presença de anéis aromáticos ^[40, 41].

Focando a atenção nas catequinas que não separavam, EC e EGCG, detectou-se que apenas a EC apresentava fluorescência nos comprimentos de onda seleccionados. Tomou-se a decisão de apenas trabalhar com C, EC e EGC pois estas apresentavam um sinal de fluorescência mais intenso do que o apresentado por DAD. Não se decidiu trabalhar com ECG pois esta apresentava um sinal muito baixo e difícil de trabalhar. Observando a tabela anterior (**tabela 3.3**) verificou-se que a quantidade de ECG é muito baixa devido ao pico correspondente não estar bem definido. Por essa razão decidiu-se descartar a EGC e apenas trabalhar com as catequinas C e EC.

Construção de curvas de calibração para as catequinas

Para a quantificação das catequinas elaboraram-se curvas de calibração da forma como descrito anteriormente.

Estas curvas de calibração foram traçadas para as catequinas C e EC como se pode observar no **gráfico 3.1** e no **gráfico 3.2**.

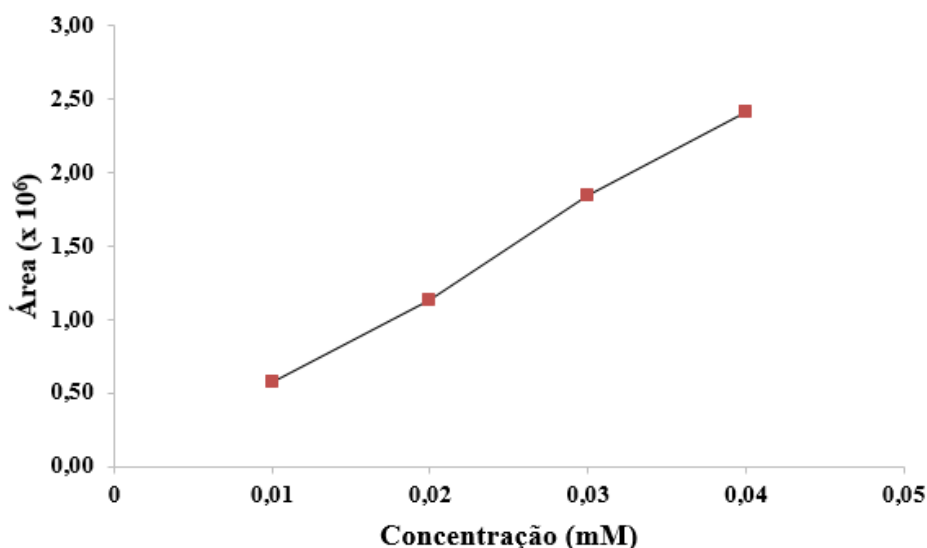


Gráfico 3.1: Curva de calibração da catequina (C)

Observando o **gráfico 3.1** obteve-se uma equação com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9981, indicando que a equação obtida está próxima da linearidade ideal, isto é, próximo de 1.

A equação da recta obtida para a catequina foi a seguinte:

$$y = 6000000x - 67346$$

Equação 3.1: Equação da curva de calibração da catequina

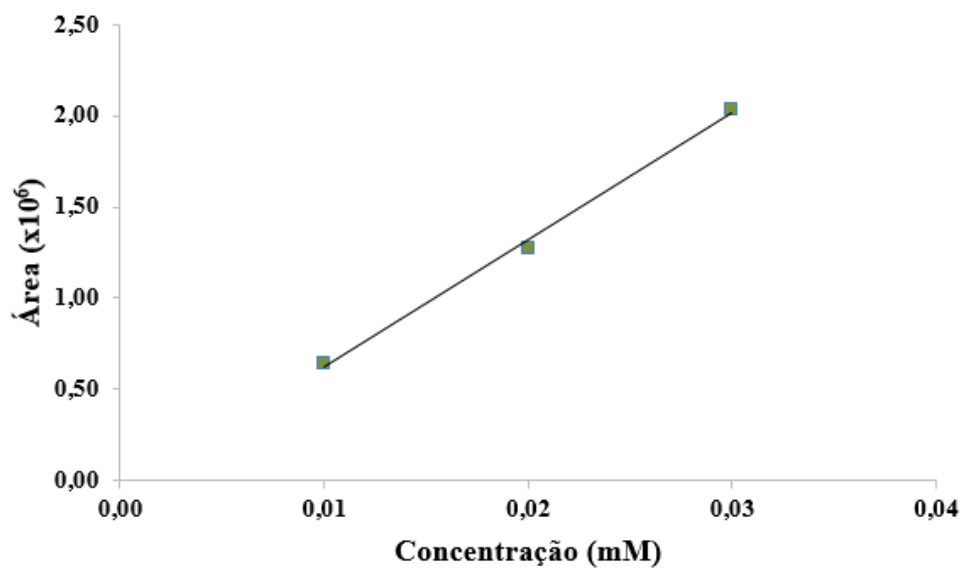


Gráfico 3.2: Curva de calibração da epicatequina (EC)

A equação da recta obtida para a epicatequina foi a seguinte:

$$y = 70000000x - 74964$$

Equação 3.2: Equação da curva de calibração da epicatequina

É de notar que esta equação apresenta um R^2 de 0,9976, valor também muito próximo da unidade.

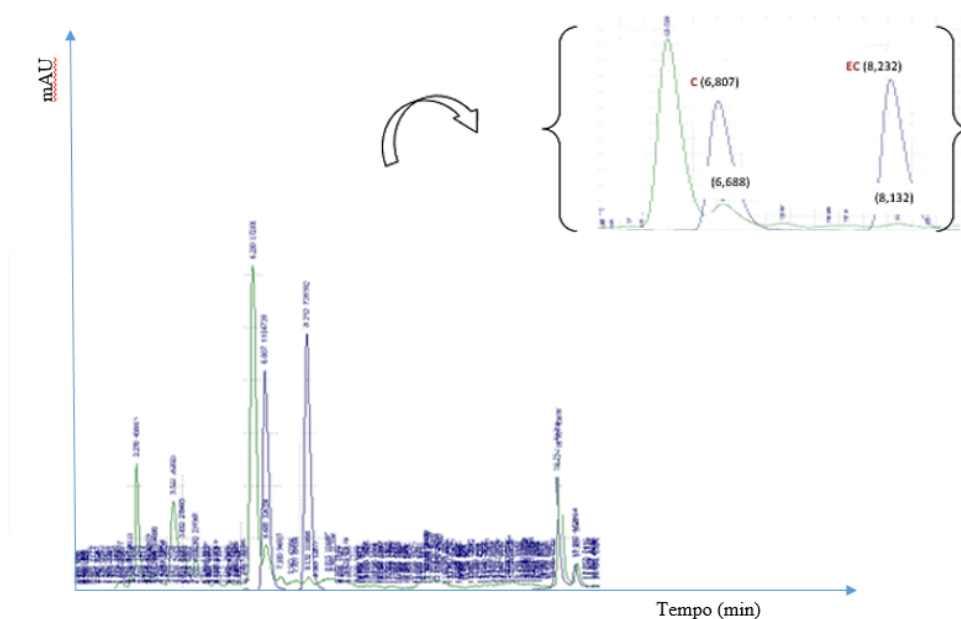
Quantificação de catequinas nas amostras de vinhos monocasta

Para a análise e quantificação de catequinas nos vinhos monocasta utilizaram-se as equações determinadas pela curva de calibração para C (equação 3.1) e EC (equação 3.2)

Para verificação da quantificação de catequinas nos replicados de todas as amostras de vinhos monocastas (branco e tinto) consultar o **Capítulo IV – Anexo C – Determinação da concentração de catequinas em vinhos monocastas.**

Na **figura 3.1** observa-se ao cromatograma do vinho branco monocasta verdeelho 2017 (réplica 1).

É importante referir que a linha azul representada na cromatograma corresponde ao padrão de catequinas e que a linha representada pela cor verde à amostra de vinho branco verdeelho 2017.



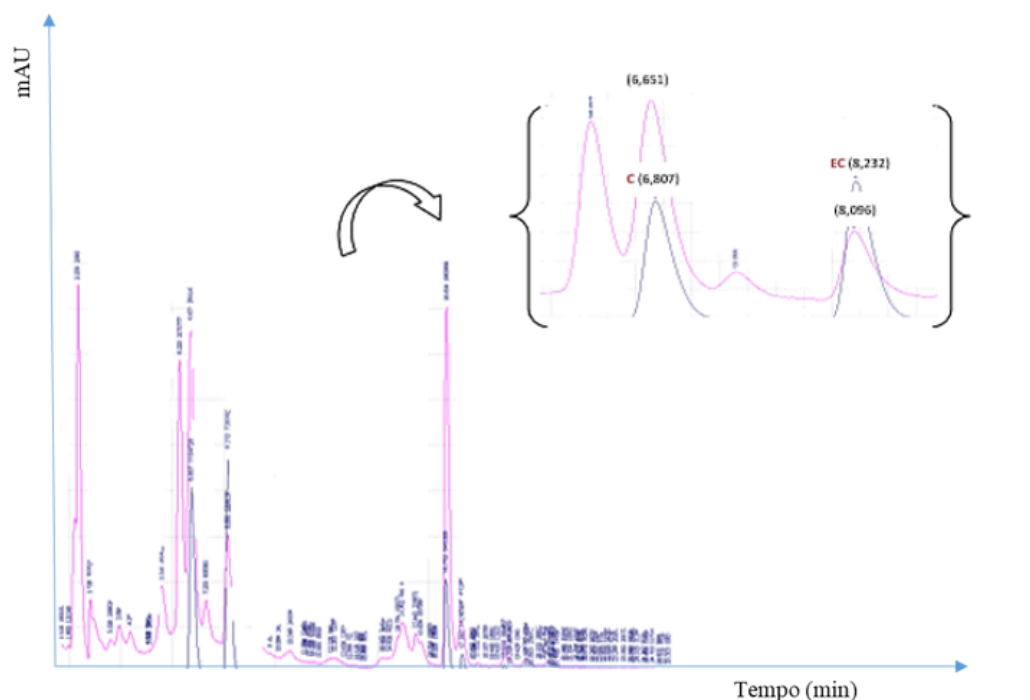


Figura 3.2: Cromatograma da amostra de vinho tinto 2017 (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas observa-se o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC

A **figura 3.2** é possível visualizar o cromatograma do vinho tinto monocasta verdeelho tinto 2017 (réplica 1). Atenta-se que a linha azul representada na cromatograma corresponde ao padrão de catequinas e que a linha representada pela cor rosa à amostra de vinho tinto verdeelho tinto 2017.

As **tabelas 3.4 e 3.5** mostram respectivamente, os resultados obtidos na quantificação das catequinas nos vinhos brancos e tintos.

Tabela 3.4: Quantificação das catequinas em vinhos brancos monocastas

Vinhos Monocastas	Ano de Produção	Catequinas	Concentração Média (mM)
Galego Dourado	2018	C	0,053
		EC	0,022
Malvasia		C	0,067
		EC	0,021
Verdelho		C	0,102
		EC	0,032
Galego Dourado	2017	C	0,029
		EC	0,019
Malvasia		C	0,009
		EC	0,006

Verdelho		C	0,065
		EC	0,025
Galego Dourado	2016	C	0,089
		EC	0,038
Malvasia		C	0,159
		EC	0,032
Verdelho		C	0,074
		EC	0,029

Observando a **tabela 3.4** é possível verificar a existência de uma maior quantidade de C do que de EC nos vinhos brancos monocastas. A catequina apresenta valores de concentração médios que variam entre 0,009 e 0,102 mM e a epicatequina valores entre 0,006 e 0,038 mM.

De igual modo, quantificaram-se as catequinas presentes nas amostras de vinhos tintos monocastas (**tabela 3.5**).

Tabela 3.5: Quantificação das catequinas em vinhos tintos monocastas

Vinhos Monocastas	Ano de Produção	Catequinas	Concentração Média (mM)
Tinta Grossa	2017	C	0,283
		EC	0,143
Verdelho Tinto		C	0,159
		EC	0,062
Tinta Grossa	2018	C	0,235
		EC	0,096
Verdelho Tinto	2016	C	0,457
		EC	0,195
Verdelho Tinto	2015	C	0,177
		EC	0,057

Atentando a **tabela 3.5** é possível verificar a existência de uma maior quantidade de C do que de EC nos vinhos tintos monocastas. Comportamento igual ao observado para os vinhos brancos. A catequina apresenta valores de concentração médios que variam entre 0,159 e 0,457 mM e a epicatequina valores entre 0,057 e 0,195 mM.

Observando os dados obtidos conclui-se que foi possível determinar a concentração de catequinas em vinhos e que a presença de catequinas é superior à de epicatequina em qualquer amostras de vinho. O uso de método de HPLC com os detectores de DAD e de FLD permitiu obter uma mistura de catequinas com um sinal mais elevado, característica esta que torna este método

superior ao utilizado pelos autores ^[18]. O método utilizado permite não só a análise de vinhos, mas também a análise de amostras como videiras.

Procedendo do mesmo modo que o anteriormente descrito para a quantificação de catequinas nas amostras vinhos monocastas decidiu-se quantificar as catequinas nas amostras de videiras.

Quantificação das catequinas nas amostras de videiras

Após o traçar das curvas e a identificação de cada equação foi possível quantificar as catequinas presentes nas videiras em estudo.

Na **figura 3.3** é possível visualizar o cromatograma Fernão Pires (réplica 1).

É de salientar que a linha a azul corresponde aos padrões de catequinas e a vermelha à amostra de videira Fernão Pires.

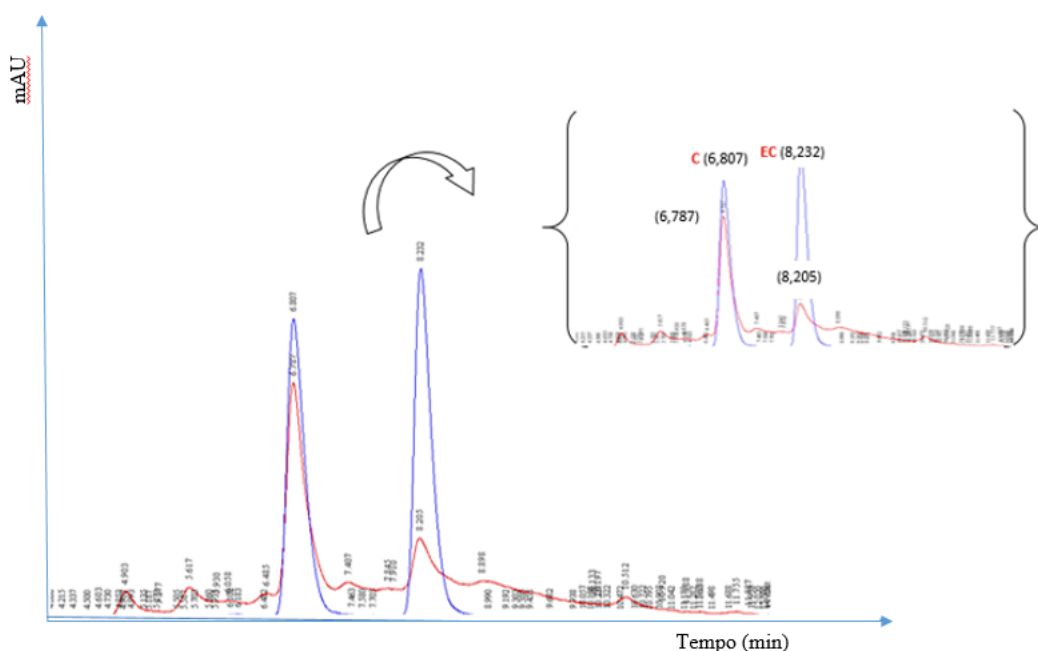


Figura 3.3: Cromatograma da videira Fernão Pires (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas observa-se o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC

Na **figura 3.4**, visualiza-se ao cromatograma da videira C19 (réplica 1).

É de salientar que a linha a vermelha corresponde aos padrões de catequinas e a azul à amostra de videira C19.

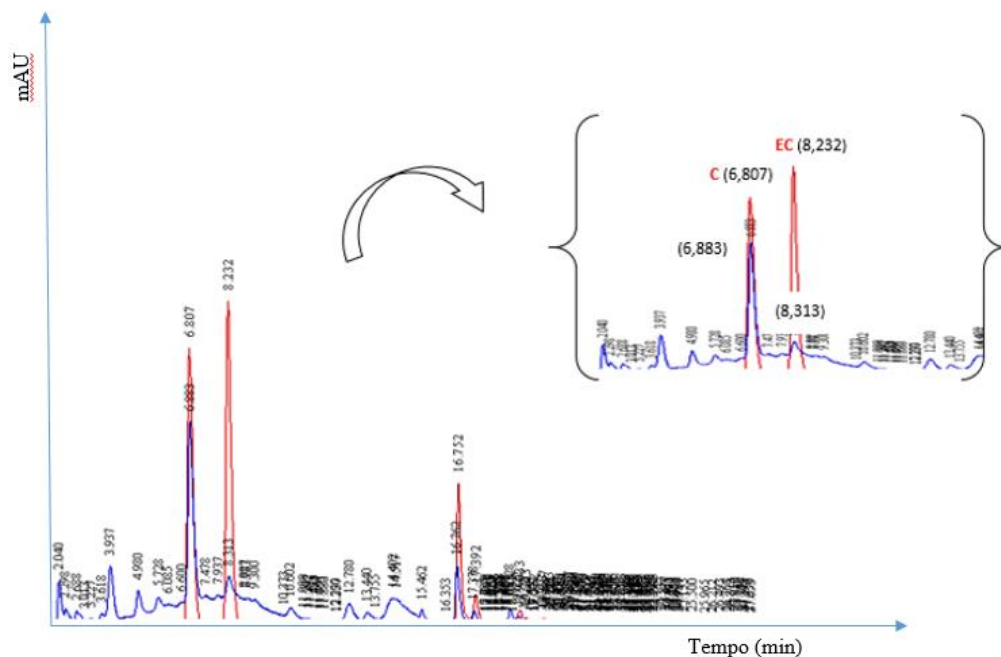


Figura 3.4: Cromatograma da videiras C19 (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas observa-se o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC

Na **figura 3.5** é possível observar o cromatograma da videira Chambourcin (réplica 1).

Note-se que a linha a vermelha corresponde aos padrões de catequinas e a azul à amostra de videira CHAM.

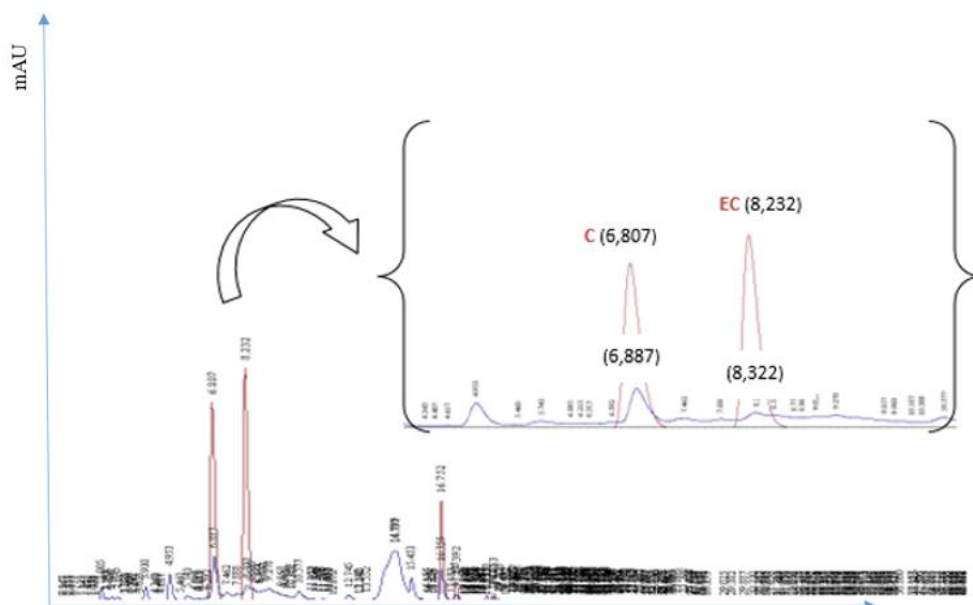


Figura 3.5: Cromatograma da videira Chambourcin (réplica 1). No eixo das ordenadas observa-se unidades arbitrárias mAU e no eixo das abcissas observa-se o tempo em minutos. Observa-se uma ampliação do cromatograma onde estão representadas C e EC

As catequinas foram quantificadas para cada uma das três réplicas de cada uma das videiras. No **Capítulo IV – Anexo D – Determinação concentração de catequinas em videiras**, é possível verificar as concentrações obtidas.

Na **tabela 3.6** observa-se a média das 3 réplicas para cada uma das videiras.

Tabela 3.6: Quantificação de catequinas em videiras

Nome da Videira	Catequinas	Concentração Média (mM)
ARA	C	0,004
	EC	0,003
ART	C	0,017
	EC	0,002
CF	C	0,017
	EC	0,004
CS	C	0,011
	EC	0,005
FP	C	0,021
	EC	0,011
PN	C	0,022
	EC	-
RS	C	0,014
	EC	0,002
SB	C	0,012
	EC	0,005
TN	C	0,015
	EC	0,001
TRI	C	0,009
	EC	0,003
REG	C	0,008
	EC	0,003
C19	C	0,014
	EC	0,002
SYL F	C	0,449
	EC	0,004
SYL M	C	0,018
	EC	0,002
CHAM	C	0,005

	EC	0,002
JPB	C	0,007
	EC	0,002
ROT	C	0,003
	EC	-
RIP	C	0,004
	EC	-
RV	C	0,006
	EC	-
BER	C	0,006
	EC	0,002
CAN	C	0,012
	EC	0,003

Para a quantificação de cada catequina em cada uma das videiras utilizaram-se as equações retiradas das curvas de calibração para a catequina e a epicatequinas e a respectiva área do pico.

Observando a **tabela 3.6** é possível verificar a existência de uma maior quantidade de C do que de EC nas videiras. Comportamento igual ao observado para os vinhos monocastas. A catequina apresenta valores de concentração médios que variam entre 0,003 e 0,449 mM e a epicatequina valores entre 0,001 e 0,011 mM.

Conclusões

As técnicas utilizadas foram empregues com sucesso pois permitiram o cumprimento dos objectivos inicialmente propostos.

Foi possível a caracterização do perfil químicos de vinhos monocastas por FT-ICR-MS tendo sido identificado milhares de compostos (ex. sorbitol, ácido propiónico, ácido benzoico, cumarina e kaempferol-3-glucuronida-7-sulfato). O uso da técnica de FT-ICR-MS permitiu identificar um grande número de compostos num tempo de análise curto e sem necessidade de grande preparação prévia das amostras, elevando este método à recomendação do seu uso para a análise *high-throughput* de vinhos. Através dos dados obtidos pelo *software* DataAnalysis infere-se que, de entre os vinhos monocastas (réplica 1), os vinhos verdeelho 2018 e verdeelho tinto 2015 apresentam maior número de picos, 11882 e 13505 respectivamente. Pelo DataAnalysis foram observados milhares de picos. Pela análise do portal MassTRIX observa-se que também o vinho verdeelho 2018 (777 compostos) e o vinho verdeelho tinto 2015 (844 compostos) apresentam maior número de compostos (réplicas 1). Através deste portal foram identificados compostos na ordem das centenas nas amostras de vinhos monocastas. Os diagramas de Van Krevelen permitem visualizar as regiões com maior densidade de compostos. Os compostos identificados e traçados no diagrama pertencem maioritariamente à classe dos lípidos e dos hidrocarbonetos condensados. Comparando os dois tipos de vinhos monocastas, os vinhos tintos apresentam um maior número de compostos identificados em relação aos vinhos brancos.

Foi também possível a quantificação de catequinas em vinhos monocastas através do método analítico HPLC. Esta técnica mostrou que a catequina está presente em maior quantidade do que a epicatequina nas amostras de vinhos monocastas. Nas amostras de vinho tinto a quantidade de C é bastante superior comparando com as amostras de vinho branco. O mesmo comportamento é observado nas amostras de EC. Dada a relevância das catequinas nas amostras de vinho decidiu-se analisar a sua presença nas folhas de videiras. Nestas observou-se que a presença de catequina é superior à de epicatequina, tal como já verificado nos vinhos monocastas.

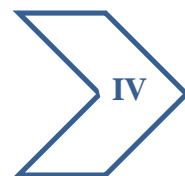
De uma forma geral, este trabalho contribuiu para uma caracterização pormenorizada do perfil químico de vinhos monocastas podendo ser um ponto de partida para novos trabalhos de investigação que contribuam para o conhecimento de todos os parâmetros que envolvam a ciência do vinho desde a uva à mesa.

Bibliografia

- [1] ASAEnews n° 104 - Dezembro 2016 (<https://www.asae.gov.pt/newsletter2/asaenews-n-104-dezembro-2016/o-vinho.aspx>). Consultado a 23 de Março de 2020
- [2] Instituto do Vinho e da Vinha (<https://www.ivv.gov.pt>). Consultado a 23 de Março de 2020
- [3] Sagartini, G; Maggi, F; Caprioli, G; Cristalli, G; Ricciutelli, M; Torregiani, E; Vittori, S; *Comparative study of aroma profile and phenolic content of Montepulciano monovarietal red wines from the Marches and Abruzzo regions of Italy using HS-SPME-GC-MS and HPLC-MS*, Elsevier, Food Chemistry, **2012**, 132, 1592-1599
- [4] Li, H. *Wine tasting*. Beijing (China): China Science Press, **2006**
- [5] Alves, R; Nascimento, A; Nogueira, J; *Characterization of the aroma profile of Madeira wine by sorptive extraction techniques*, Elsevier, Analytical Chimica Acta, **2005**, 546, 11-21
- [6] Cooper, J; Marshall, G; *Electrospray ionization fourier transform mass spectrometric analysis of wine*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, **2001**, 49, 5710-5718
- [7] Bayonove, C; Baumes, R; Crouzet, J; Günata, Z; *L'arôme variétal: le potentiel aromatique du Raisin*, In C. Flanzly Edition, Enologie: Fondements Scientifiques et Technologiques, Paris, France: Lavoisier, **1998**, 163-235
- [8] Bonino, M; Schellino, R; Rizzi, C; *Aroma compounds of an Italian wine (Ruchè) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS*, Food Chemistry, **2003**, 80, 125-133
- [9] Bernatoniene, J; Kopustinskiene, D; *Review: the role of catechins in cellular responses to oxidative stress*, Molecules, **2018**, 23, 965
- [10] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. (-)-Catechin, CID=73160, (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Catechin>). Consultado a 8 de Abril de 2020
- [11] Fujiki, H; *Green tea: health benefits as cancer preventive for humans*, The Chemical Records, **2005**, 5, 119-132
- [12] Huang, Y; Liu, Y; Dushenkov, V; Ho, C; *Anti-obesity effects of epigallocatechin-3-gallate, orange peel extract, black tea extract, caffeine and their combinations in a mouse model*, Journal of Functional Food, **2009**, 1, 304-310
- [13] Hara, Y; *Green tea: health benefits and applications*, New York: Marcel Dekker Inc, **2001**, 53-56
- [14] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. (-)-Epicatechin, CID=72276, (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/72276>). Consultado a 8 de Abril de 2020.
- [15] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Epigallocatechin, CID=72277, (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/72277>). Consultado a 8 de Abril de 2020

- [16] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. (-)-Epicatechin gallate, CID=107905, (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/107905>). Consultado a 8 de Abril de 2020
- [17] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. (-)-Epigallocatechin gallate, CID=65064, (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/65064>). Consultado a 8 de Abril de 2020
- [18] Neilson. A; Green. R.J; Wood. K.V; Ferruzzi. M.G, *High-throughput analysis of catechins and theaflavins by high performance liquid chromatography with diode array detection*, Journal of Chromatography A, **2006**, 1132, 132-140
- [19] Maia, M; Ferreira, A.E.N; Nascimento, R; Monteiro, F; Traquete, F; Marques, A.P; Cunha, J; Eiras-Dias, J.E; Cordeiro, C; Figueiredo, A; Sousa Silva, M; *Integrating metabolomics and targeted gene expression to uncover potential biomarkers of fungal/oomycetes-associated disease susceptibility in grapevine*. Scientific Reports, **2020**, 10, 15688
- [20] Alanon, M; Perez-Coello, M; Marina, M; *Wine science in the metabolomics era*, Trends in Analytical Chemistry, Elsevier, **2015**, 74, 1–20
- [21] HelmholtzZentrum Muenchen. German Research Center for Environmental Health. Página gerida por: Brigitte Waagele e Karsten Suhre. (<http://masstrix3.helmholtz-muenchen.de/masstrix3/index.html>). Consultado a 01 de Novembro de 2020
- [22] Kanehisa. F. M, Tanabe. M, Sato. Y, Morishima. K, *KEGG: New perspectives on genomes, Pathways, Diseases and Drugs*, Nucleic Acids Research, 45, D353-D361, **2017**
- [23] Wishart. DS, Tzur. D, Knox. C, et al, *HMDB: The Human metabolome database*, Nucleic Acids Research, 35, **2007**, Database issue: D521-6. 17202168
- [24] Fahy E, Subramaniam. S, Murphy. R, Nishijima. M, Raetz. C, Shimizu. T, Spener. F, Van Meer. G, Wakelam. M, Dennis. E, *Journal of lipid research*, 50, S9-S14, **2009**
- [25] Rivas-Ubach, A; Liu, Y; Bianchi, t; Tolic, N; Jansson, C; Pasa-Tolic, L; *Moving beyond the van Krevelen Diagram: A new stoichiometric approach for compound classification in organisms*, Analytical Chemistry, **2018**, 90, 6152-6160
- [26] Cooper, J; Marshall, G; *Electrospray ionization Fourier transform mass spectrometry analysis in wine*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, **2001**, 49, 5710-5718
- [27] National Cancer Institute, NCItthesaurus, Version: 20.10 d, Sorbitol (code C29462), (https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C29462). Consultado a 10 de Novembro de 2020
- [28] Junior, Dirceu - *A Importância da Acidez* - Revista Grandes Escolhas, 13, **Maio 2018**, (<https://grandesescolhas.com/a-importancia-da-acidez/>), Consultado a 10 de Novembro de 2020
- [29] Iris, J; Encyclopedia of Food Chemistry, **2019**, 1

- [30] Hroboňová, K; Sádecká, J; *Coumarins content in wine: application of HPLC, fluorescence spectrometry, and chemometric approach*, Journal of Food Science and Technology, **2020**, 57, 200–209
- [31] Saldanha, E; Baliga, S; Saxena, A; Kaur, K; Kalekhan, F; Ponemone, V; Fayad, R; Rao, S; George, T; *Polyphenols in the prevention of ulcerative colitis*, Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases, cap 23, Foods, Nutrients, and Dietary Supplements, **2019**, 277-287
- [32] Panche, A; Diwan, A; Chanadra, S; *Flavonoids: an overview*, Journal of Nutritional Science, **2016**, 47
- [33] Quideau, S; Deffieux, D; Douat-Casassus, C; Pouységu, L; *Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis*, Angewandte Chemie International Edition, **2011**, 50, 586-621
- [34] Ribéreau-Gayon, P; Glories, Y; Maujean, A; Dubourdieu, D; *Handbook of enology: the chemistry of wine – stabilization and treatments*, 2^a ed, Wiley: England, **2006**
- [35] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 289, Catechol (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Catechol>). Consultado a 29 de Novembro de 2020
- [36] Christoffoleti, J; Borges, A; Nicolai, M; Carvalho, S; López-Ovejero, R; Monquero, P; *Carfentrazone-ethyl applied in post-emergence to control Ipomoea spp. and Commelina benghalensis in sugarcane cro*, Planta daninha, **2006**, 24
- [37] Said, H; Ortiz, A; Subramanian, V; Neufeld, E; Moyer, P; Dudeja, P; *Mechanism of thiamine uptake by human colonocytes: studies with cultured colonic epithelial cell line NCM460*. American Journal of Physiology-Gastrointest and Liver Physiology, **2001**, 28, 144-150.
- [38] Darias-Martín, J; Martín-Luis, B; Carrillo-López, M; Lamuela-Raventós, R; Díaz-Romero, C; Boulton, R; *Effect of caffeic acid on the color of red wine*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, **2002**, 50, 2062-2067
- [39] Zoecklein, W; Fugelsang, C; Gump, H; Nury, S; *Wine analysis and production*, The Chapman & hall enology library, International Thompson Publishing, **1995**
- [40] Tralhão, Guida - *Propriedades antioxidantes e compostos bioactivos em vinhos portugueses monocasta*, Lisboa – Faculdade Ciências e Tecnologia Universidade Nova de Lisboa, **2015**. Dissertação de Doutoramento
- [41] Mattice, W; *Fluorescence of oligomers that contain catechin or epicatechin*, Plant Polyphenols, Edited by R.W. Hemingway and P.E. Laks. Plenum Press, New York. **1992**, 447-458



Capítulo IV

Anexos



Anexo A – Compostos Identificados para o Portal MassTRIX

Tabela 4.1: Compostos identificados pelo portal MassTRIX para a amostra de vinho branco Verdelho 2017 (réplica 1)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
101	100.999938851631	0.605429396033638	C2H5O2R# C2H6O2#C 2H5O2R#C 2H6O2#C2 H6AsO2	R replaced by H in Alditol; Glycitol; Sugar alcohol ([M+K39]+)#Ethylene glycol;1,2-Ethanediol;Ethane-1,2-diol ([M+K39]+)#R replaced by H in L-Glycol ([M+K39]+)#Glycol ([M+K39]+)#Dimethylarsinate (see KEGG C07308) [anion] ([M+K39]++)
101	100.999938851631	0.605429396033638	C2H5O2R# C2H6O2#C 2H5O2R#C 2H6O2#C2 H6AsO2	R replaced by H in Alditol;Glycitol;Sugar alcohol ([M+K39]+)#Ethylene glycol;1,2-Ethanediol;Ethane-1,2-diol ([M+K39]+)#R replaced by H in L-Glycol ([M+K39]+)#Glycol ([M+K39]+)#Dimethylarsinate (see KEGG C07308) [anion] ([M+K39]++)
101	100.999938851631	0.605429396033638	C2H5O2R# C2H6O2#C 2H5O2R#C 2H6O2#C2 H6AsO2	R replaced by H in Alditol;Glycitol;Sugar alcohol ([M+K39]+)#Ethylene glycol;1,2-Ethanediol;Ethane-1,2-diol ([M+K39]+)#R replaced by H in L-Glycol ([M+K39]+)#Glycol ([M+K39]+)#Dimethylarsinate (see KEGG C07308) [anion] ([M+K39]++)
101	100.999938851631	0.605429396033638	C2H5O2R# C2H6O2#C 2H5O2R#C 2H6O2#C2 H6AsO2	R replaced by H in Alditol;Glycitol;Sugar alcohol ([M+K39]+)#Ethylene glycol;1,2-Ethanediol;Ethane-1,2-diol ([M+K39]+)#R replaced by H in L-Glycol ([M+K39]+)#Glycol ([M+K39]+)#Dimethylarsinate (see KEGG C07308) [anion] ([M+K39]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
113	112.999938851631	0.541136008844225	C3H6O2#C 3H5O2R#C 3H6O2# C3H5O2R# C3H6O2#C 3H6O2#C3 H5O2R#C3 H6O2#C3H 6O2#C3H5 O2R#C3H6 O2#C3H6O 2#C3H6O2 #C3H6O2# C3H6O2#C 3H6O2#C3 H6O2#C3H 6O2	Propanoate;Propionate;Propanoic acid;Propionic acid ([M+K39]+)#R replaced by H in Long-chain carboxylate;Long-chain carboxylic acid ([M+K39]+)#(S)-Lactaldehyde;L-Lactaldehyde;L-2-Hydroxypropionaldehyde ([M+K39]+)#R replaced by H in Long-chain fatty acid;Higher fatty acid ([M+K39]+)#(R)-Lactaldehyde;D-Lactaldehyde;D-2-Hydroxypropionaldehyde ([M+K39]+)#3-Hydroxypropanal ([M+K39]+)#R replaced by H in Long-chain-fatty-acyl ethyl ester ([M+K39]+)#Hydroxyacetone;Acetol;1-Hydroxy-2-propanone;2-Ketopropyl alcohol;Acetone alcohol;Pyruvinalcohol;Pyruvic alcohol;Methylketol ([M+K39]+)#Lactaldehyde;2-Hydroxypropionaldehyde;2-Hydroxypropanal ([M+K39]+)#R replaced by H in 2-Arylpropionate ([M+K39]+)#Glycidol ([M+K39]+)#Methyl acetate;Devoton;Tereton ([M+K39]+)#Propionic acid (see KEGG C00163); Propanoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]+)#Lactaldehyde (see KEGG C00424); 2-hydroxypropanal [aldehyde] ([M+K39]+)#3-Hydroxypropanal (see KEGG C00969); 3-hydroxypropanal [aldehyde] ([M+K39]+)#D-Lactaldehyde (see KEGG C00937); (2R)-2-hydroxypropanal [aldehyde] ([M+K39]+)#Hydroxyacetone (see KEGG C05235); 1-hydroxypropan-2-one [ketone] ([M+K39]+)#Propionic acid (see KEGG C00163); propanoic acid [Straight chain fatty acids [FA0101]] ([M+K39]+)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
113	112.999938851631	0.541136008844225	C3H6O2#C 3H5O2R#C 3H6O2#C3 H5O2R#C3 H6O2#C3H 6O2#C3H5 O2R#C3H6 O2#C3H6O 2#C3H5O2 R#C3H6O2 #C3H6O2# C3H6O2#C 3H6O2#C3 H6O2#C3H 6O2#C3H6 O2#C3H6O 2	Propanoate;Propionate;Propanoic acid;Propionic acid ([M+K39]+)#R replaced by H in Long-chain carboxylate;Long-chain carboxylic acid ([M+K39]+)#(S)-Lactaldehyde;L-Lactaldehyde;L-2-Hydroxypropionaldehyde ([M+K39]+)#R replaced by H in Long-chain fatty acid;Higher fatty acid ([M+K39]+)#(R)-Lactaldehyde;D-Lactaldehyde;D-2-Hydroxypropionaldehyde ([M+K39]+)#3-Hydroxypropanal ([M+K39]+)#R replaced by H in Long-chain-fatty-acyl ethyl ester ([M+K39]+)#Hydroxyacetone;Acetol;1-Hydroxy-2-propanone;2-Ketopropyl alcohol;Acetone alcohol;Pyruvinalcohol;Pyruvic alcohol;Methylketol ([M+K39]+)#Lactaldehyde;2-Hydroxypropionaldehyde;2-Hydroxypropanal ([M+K39]+)#R replaced by H in 2-Arylpropionate ([M+K39]+)#Glycidol ([M+K39]+)#Methyl acetate;Devoton;Tereton ([M+K39]+)#Propionic acid (see KEGG C00163); Propanoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]+)#Lactaldehyde (see KEGG C00424); 2-hydroxypropanal [aldehyde] ([M+K39]+)#3-Hydroxypropanal (see KEGG C00969); 3-hydroxypropanal [aldehyde] ([M+K39]+)#D-Lactaldehyde (see KEGG C00937); (2R)-2-hydroxypropanal [aldehyde] ([M+K39]+)#Hydroxyacetone (see KEGG C05235); 1-hydroxypropan-2-one [ketone] ([M+K39]+)#Propionic acid (see KEGG C00163); propanoic acid [Straight chain fatty acids [FA0101]] ([M+K39]+)

[illegible]

[illegible]

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
161	160.999938851631	0.379803534246014	C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C6H5ClO3#C6H5ClO3	Benzoate;Benzoic acid;Benzenecarboxylic acid;Phenylformic acid;Dracrylic acid ([M+K39]+)#Aromatic acid;Aromatic carboxylic acid ([M+K39]+)#4-Hydroxybenzaldehyde;p-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#3-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#Salicylaldehyde;o-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#Tropolone ([M+K39]+)#Benzoic acid (see KEGG C00180); benzoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]+)#4-Hydroxybenzaldehyde (see KEGG C00633); 4-Hydroxybenzaldehyde [aldehyde] ([M+K39]+)#6-Chlorobenzene-1,2,4-triol;6-Chlorohydroxyquinol ([M+H]+)#5-Chloro-1,2,4-trihydroxybenzene ([M+H]++)
161	160.999938851631	0.379803534246014	C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C6H5ClO3#C6H5ClO3	Benzoate;Benzoic acid;Benzenecarboxylic acid;Phenylformic acid;Dracrylic acid ([M+K39]+)#Aromatic acid;Aromatic carboxylic acid ([M+K39]+)#4-Hydroxybenzaldehyde;p-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#3-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#Salicylaldehyde;o-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#Tropolone ([M+K39]+)#Benzoic acid (see KEGG C00180); benzoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]+)#4-Hydroxybenzaldehyde (see KEGG C00633); 4-Hydroxybenzaldehyde [aldehyde] ([M+K39]+)#6-Chlorobenzene-1,2,4-triol;6-Chlorohydroxyquinol ([M+H]+)#5-Chloro-1,2,4-trihydroxybenzene ([M+H]++)
161	160.999938851631	0.379803534246014	C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C6H5ClO3#C6H5ClO3	Benzoate;Benzoic acid;Benzenecarboxylic acid;Phenylformic acid;Dracrylic acid ([M+K39]+)#Aromatic acid;Aromatic carboxylic acid ([M+K39]+)#4-Hydroxybenzaldehyde;p-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#3-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#Salicylaldehyde;o-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#Tropolone ([M+K39]+)#Benzoic acid (see KEGG C00180); benzoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]+)#4-Hydroxybenzaldehyde (see KEGG C00633); 4-Hydroxybenzaldehyde [aldehyde] ([M+K39]+)#6-Chlorobenzene-1,2,4-triol;6-Chlorohydroxyquinol ([M+H]+)#5-Chloro-1,2,4-trihydroxybenzene ([M+H]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
161	160.999938851631	0.379803534246014	C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C7H6O2#C6H5ClO3#C6H5ClO3	Benzoate;Benzoic acid;Benzenecarboxylic acid;Phenylformic acid;Dracrylic acid ([M+K39]+)#Aromatic acid;Aromatic carboxylic acid ([M+K39]+)#4-Hydroxybenzaldehyde;p-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#3-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#Salicylaldehyde;o-Hydroxybenzaldehyde ([M+K39]+)#Tropolone ([M+K39]+)#Benzoic acid (see KEGG C00180); benzoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]+)#4-Hydroxybenzaldehyde (see KEGG C00633); 4-Hydroxybenzaldehyde [aldehyde] ([M+K39]+)#6-Chlorobenzene-1,2,4-triol;6-Chlorohydroxyquinol ([M+H]+)#5-Chloro-1,2,4-trihydroxybenzene ([M+H]++)
173	172.999938851631	0.353458780425482	C8H6O2#C8H6O2	6E-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]+)#6Z-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]++)
173	172.999938851631	0.353458780425482	C8H6O2#C8H6O2	6E-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]+)#6Z-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]++)
173	172.999938851631	0.353458780425482	C8H6O2#C8H6O2	6E-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]+)#6Z-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]++)
173	172.999938851631	0.353458780425482	C8H6O2#C8H6O2	6E-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]+)#6Z-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]++)
173	172.999938851631	0.353458780425482	C8H6O2#C8H6O2	6E-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]+)#6Z-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]++)
173	172.999938851631	0.353458780425482	C8H6O2#C8H6O2	6E-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]+)#6Z-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]++)
173	172.999938851631	0.353458780425482	C8H6O2#C8H6O2	6E-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]+)#6Z-Octene-2,4-diyonic acid [Unsaturated fatty acids [FA0103]] ([M+K39]++)
185	184.999938851631	0.330531724397883	C9H6O2#C9H6O2#C9H6O2	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]+)#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]+)#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]#

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]+)#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]+)#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]++)
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]+)#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]+)#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]++)
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]+)#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]+)#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]++)
185	184.999938851631	0.330531724397883	C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂ #C ₉ H ₆ O ₂	Coumarin;Coumarine;Cumarin;2H-1-Benzopyran-2-one;1,2-Benzopyrone;2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, delta-lactone;5,6-Benzo-2-pyrone;Benzo-alpha-pyrone;cis-o-Coumarinic acid lactone;Coumarinic anhydride;o-Hydroxycinnamic acid lactone;Rattex;Tonka bean camphor ([M+K39]+)#Coumarin (see KEGG C05851); chromen-2-one [oxo(het)arene] ([M+K39]+)#Phenylpropionic acid; 3-phenyl-2-propynoic acid [carboxylic acid] ([M+K39]++)
197	196.999938851631	0.310397812251819	C ₁₀ H ₆ O ₂ #C ₁₀ H ₆ O ₂	1,4-Naphthoquinone;1,4-Naphthalenedione ([M+K39]+)#1,2-Naphthoquinone;1,2-Naphthalenedione ([M+K39]++)
197	196.999938851631	0.310397812251819	C ₁₀ H ₆ O ₂ #C ₁₀ H ₆ O ₂	1,4-Naphthoquinone;1,4-Naphthalenedione ([M+K39]+)#1,2-Naphthoquinone;1,2-Naphthalenedione ([M+K39]++)
197	196.999938851631	0.310397812251819	C ₁₀ H ₆ O ₂ #C ₁₀ H ₆ O ₂	1,4-Naphthoquinone;1,4-Naphthalenedione ([M+K39]+)#1,2-Naphthoquinone;1,2-Naphthalenedione ([M+K39]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
207	206.999912580741	0.42231526081657	C3H9N3O3 S#C3H9N3 O3S	Taurocyamine ([M+K40]+)#Taurocyamine (see KEGG C01959); 2-(diaminomethylideneamino)ethanesulfonic acid [guanidine] ([M+K40] +)
207	206.999912580741	0.42231526081657	C3H9N3O3 S#C3H9N3 O3S	Taurocyamine ([M+K40]+)#Taurocyamine (see KEGG C01959); 2-(diaminomethylideneamino)ethanesulfonic acid [guanidine] ([M+K40] +)
207	206.999912580741	0.42231526081657	C3H9N3O3 S#C3H9N3 O3S	Taurocyamine ([M+K40]+)#Taurocyamine (see KEGG C01959); 2-(diaminomethylideneamino)ethanesulfonic acid [guanidine] ([M+K40] +)
207	206.999912580741	0.42231526081657	C3H9N3O3 S#C3H9N3 O3S	Taurocyamine ([M+K40]+)#Taurocyamine (see KEGG C01959); 2-(diaminomethylideneamino)ethanesulfonic acid [guanidine] ([M+K40] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)
221	220.999938851631	0.276689452550264	C12H6O2	Acenaphthenequinone;Acenaphthoquinone;1,2-Diketoacenaphthene ([M+K39] +)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
230	229.999846756721	0.66627512603151	C5H7N3O5	Quisqualic acid ([M+K41]⁺)
237	236.999825209241	0.737513751013436	C6H8N2O4 S2	m-Benzenedisulfonamide ([M+H]⁺)
237	236.999825209241	0.737513751013436	C6H8N2O4 S2	m-Benzenedisulfonamide ([M+H]⁺)
237	236.999825209241	0.737513751013436	C6H8N2O4 S2	m-Benzenedisulfonamide ([M+H]⁺)
237	236.999825209241	0.737513751013436	C6H8N2O4 S2	m-Benzenedisulfonamide ([M+H]⁺)
237	236.999825209241	0.737513751013436	C6H8N2O4 S2	m-Benzenedisulfonamide ([M+H]⁺)
237	236.999825209241	0.737513751013436	C6H8N2O4 S2	m-Benzenedisulfonamide ([M+H]⁺)
237	236.999825209241	0.737513751013436	C6H8N2O4 S2	m-Benzenedisulfonamide ([M+H]⁺)
237	236.999825209241	0.737513751013436	C6H8N2O4 S2	m-Benzenedisulfonamide ([M+H]⁺)
239	239.000181109871	(-) 0.75778188700260	C6H6N4O4 #C6H6N4O4	Nitrofurazone;5-Nitro-2-furaldehyde semicarbazone ([M+K41]⁺)#2,4-Dinitrophenylhydrazine ([M+K41]⁺)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
254	253.999846756721	0.603319996012785	C7H7N3O5 #C7H7N3O5	4-Hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)#2-Hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)
254	253.999846756721	0.603319996012785	C7H7N3O5 #C7H7N3O5	4-Hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)#2-Hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)
254	253.999846756721	0.603319996012785	C7H7N3O5 #C7H7N3O5	4-Hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)#2-Hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)
254	253.999846756721	0.603319996012785	C7H7N3O5 #C7H7N3O5	4-Hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)#2-Hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)
254	253.999846756721	0.603319996012785	C7H7N3O5 #C7H7N3O5	4-Hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)#2-Hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)
254	253.999846756721	0.603319996012785	C7H7N3O5 #C7H7N3O5	4-Hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)#2-Hydroxylamino-4,6-dinitrotoluene ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
266	265.999846756721	0.576102552583637	C8H7N3O5	Furazolidone ([M+K41]⁺)
285	284.999909865651	0.316260873763927	C14H11Cl3 #C14H11Cl3	1-Chloro-2,2-bis(4'-chlorophenyl)ethane;DDMS ([M+H]⁺)#1-Chloro-4-(2,2-dichloro-1-phenylethyl)benzene;1,1-Dichloro-2-(p-chlorophenyl)-2-phenylethane ([M+H]⁺)
285	284.999909865651	0.316260873763927	C14H11Cl3 #C14H11Cl3	1-Chloro-2,2-bis(4'-chlorophenyl)ethane;DDMS ([M+H]⁺)#1-Chloro-4-(2,2-dichloro-1-phenylethyl)benzene;1,1-Dichloro-2-(p-chlorophenyl)-2-phenylethane ([M+H]⁺)
285	284.999909865651	0.316260873763927	C14H11Cl3 #C14H11Cl3	1-Chloro-2,2-bis(4'-chlorophenyl)ethane;DDMS ([M+H]⁺)#1-Chloro-4-(2,2-dichloro-1-phenylethyl)benzene;1,1-Dichloro-2-(p-chlorophenyl)-2-phenylethane ([M+H]⁺)
285	284.999909865651	0.316260873763927	C14H11Cl3 #C14H11Cl3	1-Chloro-2,2-bis(4'-chlorophenyl)ethane;DDMS ([M+H]⁺)#1-Chloro-4-(2,2-dichloro-1-phenylethyl)benzene;1,1-Dichloro-2-(p-chlorophenyl)-2-phenylethane ([M+H]⁺)
285	284.999909865651	0.316260873763927	C14H11Cl3 #C14H11Cl3	1-Chloro-2,2-bis(4'-chlorophenyl)ethane;DDMS ([M+H]⁺)#1-Chloro-4-(2,2-dichloro-1-phenylethyl)benzene;1,1-Dichloro-2-(p-chlorophenyl)-2-phenylethane ([M+H]⁺)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]⁺)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)
336	336.000143879221	-0.428211967302906	C12H11N2 O5S	1,4-benzothiazine-o-quinonimine [ketone] ([M+K41]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
340	340.000278701731	-0.819710973587462	C6H13NO1 1S2	N,6-O-Disulfo-D-glucosamine;N2,6-Disulfo-D-glucosamine ([M+H] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] ⁺)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] +)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] +)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] +)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] +)
347	347.000244472191	-0.704530809837913	C16H14Cl2 O2	p,p'-Methoxychlor olefin;1,1-Dichloro-2,2-bis(p-methoxyphenyl)ethylene;1,1-Bis(p-methoxyphenyl)-2,2-dichloroethylene ([M+K39] +)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4 O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39] +)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39] +)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4 O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39] +)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39] +)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4 O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39] +)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39] +)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4 O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39] +)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39] +)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4 O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39] +)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39] +)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4 O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39] +)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39] +)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39]++)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39]++)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39]++)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39]++)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39]++)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39]++)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39]++)
369	368.999694757901	0.827214360403404	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K39]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K39]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
370	369.999985757901	0.0384921594178269	C10H11N4O7P#C10H11N4O7P	3',5'-Cyclic IMP;Inosine 3',5'-cyclic monophosphate ([M+K40]+)#Inosine 2',3'-cyclic phosphate [primary alcohol] ([M+K40]++)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2N3O2	Azafenidin ([M+K41]++)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2N3O2	Azafenidin ([M+K41]++)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2N3O2	Azafenidin ([M+K41]++)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2N3O2	Azafenidin ([M+K41]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2 N3O2	Azafenidin ([M+K41]+)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2 N3O2	Azafenidin ([M+K41]+)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2 N3O2	Azafenidin ([M+K41]+)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2 N3O2	Azafenidin ([M+K41]+)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2 N3O2	Azafenidin ([M+K41]+)
378	377.999758454461	0.639009362390743	C15H13Cl2 N3O2	Azafenidin ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
385	384.999902766681	0.252554075389041	C17H13Cl N2O2S	L787257 ([M+K41]+)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]+)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]+)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]+)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]+)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
397	396.999902766681	0.244920199054864	C18H13Cl N2O2S	Y 23684;2-(4-Chlorophenyl)-5,6-dihydro-[1]benzothepino[5,4-c]pyridazin-3(2H)-one-7-oxide ([M+K41]++)
419	419.000088680721	-0.211648498754459	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K39]++)
419	419.000088680721	-0.211648498754459	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K39]++)
419	419.000088680721	-0.211648498754459	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K39]++)
419	419.000088680721	-0.211648498754459	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K39]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
419	419.000088680721	-0.211648498754459	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K39]++)
419	419.000088680721	-0.211648498754459	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K39]++)
419	419.000088680721	-0.211648498754459	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K39]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)
420	420.000379680721	-0.90400171662471	C10H13N4 O10P	Urate D-ribonucleotide ([M+K40]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
431	431.000088680721	-0.205755733127884	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K39]⁺)
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]⁺)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]++)
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]++)
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]++)
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]++)
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]++)
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]++)
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]++)
432	432.000379680721	-0.878890557829579	C11H12N4 O10PR	R replaced by H in 5'-Acylphosphouridine ([M+K40]++)
442	442.000193433221	-0.437631721719118	C10H17N3 O10P2	5-Methyldeoxycytidine diphosphate ([M+K41]++)
442	442.000193433221	-0.437631721719118	C10H17N3 O10P2	5-Methyldeoxycytidine diphosphate ([M+K41]++)
442	442.000193433221	-0.437631721719118	C10H17N3 O10P2	5-Methyldeoxycytidine diphosphate ([M+K41]++)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
450	449.999590778091	0.909382020053171	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K39] +)
450	449.999590778091	0.909382020053171	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K39] +)
450	449.999590778091	0.909382020053171	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K39] +)
451	450.999881778091	0.262132835963784	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K40] +)
451	450.999881778091	0.262132835963784	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K40] +)
451	450.999881778091	0.262132835963784	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K40] +)
451	450.999881778091	0.262132835963784	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K40] +)
451	450.999881778091	0.262132835963784	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K40] +)
451	450.999881778091	0.262132835963784	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K40] +)
451	450.999881778091	0.262132835963784	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K40] +)
451	450.999881778091	0.262132835963784	C15H14Cl2 F3N3O3	Carfentrazone-ethyl ([M+K40] +)
519	518.999596475891	0.77750310009025	C16H22Br N3O7S#C1 6H22BrN3 O7S	3,4-Dihydro-3-hydroxy-4-S-glutathionyl bromobenzene ([M+K40] +)#2,3-Dihydro-2-S- glutathionyl-3-hydroxy bromobenzene ([M+K40] +)

Massa Isolada	KEGG Massa	Desvio ppm	KEGG Fórmula	KEGG Nome
519	518.999596475891	0.77750310009025	C16H22BrN3O7S#C16H22BrN3O7S	3,4-Dihydro-3-hydroxy-4-S-glutathionyl bromobenzene ([M+K40]+)#2,3-Dihydro-2-S-glutathionyl-3-hydroxy bromobenzene ([M+K40]++)
519	518.999596475891	0.77750310009025	C16H22BrN3O7S#C16H22BrN3O7S	3,4-Dihydro-3-hydroxy-4-S-glutathionyl bromobenzene ([M+K40]+)#2,3-Dihydro-2-S-glutathionyl-3-hydroxy bromobenzene ([M+K40]++)
519	518.999596475891	0.77750310009025	C16H22BrN3O7S#C16H22BrN3O7S	3,4-Dihydro-3-hydroxy-4-S-glutathionyl bromobenzene ([M+K40]+)#2,3-Dihydro-2-S-glutathionyl-3-hydroxy bromobenzene ([M+K40]++)
528	528.000519443081	(-) 0.983793713968143	C12H20N4O10P3S#C12H20N4O10P3S	Thiamin triphosphate;Thiamine triphosphate ([M+Na]+)#Thiamine triphosphate (see KEGG C03028); [[2-[3-[(4-amino-2-methyl-pyrimidin-5-yl)methyl]-4-methyl-1-thia-3-azoniacyclopenta-2,4-dien-5-yl]ethoxy-hydroxy-phosphoryl]oxy-hydroxy-phosphoryl]oxy phosphonic acid [cation] ([M+Na]++)
528	528.000519443081	(-) 0.983793713968143	C12H20N4O10P3S#C12H20N4O10P3S	Thiamin triphosphate;Thiamine triphosphate ([M+Na]+)#Thiamine triphosphate (see KEGG C03028); [[2-[3-[(4-amino-2-methyl-pyrimidin-5-yl)methyl]-4-methyl-1-thia-3-azoniacyclopenta-2,4-dien-5-yl]ethoxy-hydroxy-phosphoryl]oxy-hydroxy-phosphoryl]oxy phosphonic acid [cation] ([M+Na]++)
581	580.999800289751	0.343735368390669	C21H18O15S#C21H18O15S	8-Hydroxyapigenin 8-(2"-sulfatoglucuronide) [Flavones and Flavonols [PK1211]] ([M+K39]+)#Kaempferol 3-glucuronide-7-sulfate [Flavones and Flavonols [PK1211]] ([M+K39]++)
582	582.000091289751	(-) 0.156855242312929	C21H18O15S#C21H18O15S	8-Hydroxyapigenin 8-(2"-sulfatoglucuronide) [Flavones and Flavonols [PK1211]] ([M+K40]+)#Kaempferol 3-glucuronide-7-sulfate [Flavones and Flavonols [PK1211]] ([M+K40]++)
638	637.999746217031	0.397778948315754	C14H23NO21S3	Heparan sulfate (see KEGG C00925) [anion] ([M+H]++)

Anexo B – Quantificação de Catequinas

Quantificação de cada catequina a vários volumes

Dados:

- ❖ Volume inicial: 200 µl
- ❖ Volume injectado: 10 µl

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$0,2 \text{ mM} \times 10 \text{ µl} = C_2 \times 200 \text{ µl}$$

$$C_2 = 0,01 \text{ mM}$$

Quantificação de catequinas em videiras

Dados:

Cultivar escolhido: ARA

Equação da curva de calibração para catequina C

$$Y = 60000000x - 67346$$

Área do pico do cultivar ARA para catequina C: 156537

$$156537 = 60000000x - 67346$$

$$156537 + 67346 = 60000000x$$

$$223883 = 60000000x$$

$$x = 0,004 \text{ mM}$$

Anexo C – Determinação da concentração de catequinas em vinhos monocastas

Tabela 4.2: Quantificação de catequinas em vinhos brancos monocastas (replicados)

Vinhos Monocastas	Catequinas	Tempo de Retenção (min)	Área do Pico	Concentração (mM)
Galego Dourado 2018	C	6,657	276622	0,057
	EC	8,117	95659	0,024
	C	6,678	266919	0,056
	EC	8,11	86924	0,023
	C	6,678	213385	0,047
	EC	8,105	60153	0,019
Malvasia 2018	C	6,677	342833	0,068
	EC	8,17	75934	0,022
	C	6,702	330612	0,066
	EC	8,153	68414	0,021
	C	6,688	325799	0,066
	EC	8,165	64880	0,020
Verdelho 2018	C	6,777	555581	0,104
	EC	8,177	166896	0,035
	C	6,68	561345	0,105
	EC	8,135	156923	0,033
	C	6,695	510873	0,096
	EC	8,128	119859	0,028
Galego Dourado 2017	C	6,653	104259	0,029
	EC	8,132	62645	0,019
	C	6,642	119726	0,031
	EC	8,192	58401	0,019
	C	6,700	104477	0,029
	EC	8,15	45865	0,017
Malvasia 2017	C	7,125	104165	0,009
	EC	8,398	76397	0,007
	C	7,165	104128	0,009
	EC	8,424	31917	0,005
	C	7,195	91123	0,008
	EC	8,471	59870	0,006
Verdelho 2017	C	6,688	325334	0,065
	EC	8,132	110686	0,027
	C	6,600	305376	0,062
	EC	8,108	87168	0,023
	C	6,700	330028	0,066

	EC	8,13	105058	0,026
Galego Dourado 2016	C	6,677	464252	0,089
	EC	8,12	189192	0,038
	C	6,662	468103	0,089
	EC	8,1	195374	0,039
	C	6,725	472073	0,090
	EC	8,148	196825	0,039
Malvasia 2016	C	6,673	892833	0,160
	EC	8,123	149459	0,032
	C	6,655	882368	0,158
	EC	8,103	148771	0,032
	C	6,692	882791	0,158
	EC	8,125	147493	0,032
Verdelho 2016	C	6,678	368344	0,073
	EC	8,127	124311	0,028
	C	6,643	376463	0,074
	EC	8,113	122396	0,028
	C	6,648	377536	0,074
	EC	8,077	133868	0,029

Tabela 4.3: Quantificação de catequinas em vinhos tintos monocastas (replicados)

Vinhos Monocastas	Catequinas	Tempo de Retenção (min)	Área do Pico	Concentração (mM)
Tinto Grossa 2017	C	6,697	1634024	0,284
	EC	8,115	943378	0,145
	C	6,668	1628507	0,283
	EC	8,113	915377	0,142
	C	6,662	1622331	0,282
	EC	8,12	911125	0,141
Verdelho Tinto 2017	C	6,651	2841802	0,162
	EC	8,096	1254136	0,063
	C	6,580	2759071	0,157
	EC	8,043	1166644	0,059
	C	6,611	2760300	0,157
	EC	8,056	1270263	0,064
Tinta Grossa 2018	C	6,610	1342769	0,235
	EC	8,058	599165	0,096
	C	6,643	1330936	0,233
	EC	8,077	579354	0,093
	C	6,630	1347572	0,236
	EC	8,063	609921	0,098
Verdelho Tinto 2016	C	6,611	2663024	0,455
	EC	8,074	1237505	0,187
	C	6,598	2698417	0,461
	EC	8,064	1323408	0,199
	C	6,648	2656056	0,454
	EC	8,114	1307223	0,197
Verdelho Tinto 2015	C	6,600	1628323	0,283
	EC	8,059	452432	0,075
	C	6,636	724755	0,132
	EC	8,089	254107	0,047
	C	6,595	635888	0,117
	EC	8,054	266568	0,049

Anexo D – Determinação da concentração de catequinas em videiras

Tabela 4.4: Quantificação de catequinas em videiras (replicados)

Nome da videira	Catequinas	Tempo de Retenção (min)	Área do Pico	Concentração (mM)
ARA	C	6,818	156537	0,004
	EC	8,238	122250	0,003
	C	6,820	178140	0,004
	EC	8,223	136709	0,003
	C	6,817	155606	0,004
	EC	8,220	127267	0,003
ART	C	6,835	779746	0,014
	EC	8,253	79898	0,002
	C	6,773	1036772	0,018
	EC	8,193	90757	0,002
	C	6,759	1067474	0,019
	EC	8,207	93479	0,002
CF	C	6,775	1067162	0,019
	EC	8,187	246722	0,005
	C	6,833	1109387	0,019
	EC	8,227	230473	0,004
	C	6,795	754604	0,014
	EC	8,223	219685	0,004
CS	C	6,798	611595	0,011
	EC	8,212	286552	0,005
	C	6,813	538003	0,010
	EC	8,232	268616	0,004
	C	6,832	547712	0,010
	EC	8,238	245565	0,005
FP	C	6,787	1172537	0,021
	EC	8,205	659715	0,011
	C	6,797	1202931	0,021
	EC	8,223	711572	0,011
	C	6,790	1192928	0,021
	EC	8,233	657710	0,011

PN	C EC	6,828 -	1555952 -	0,027 -
	C EC	6,817 -	1078522 -	0,019 -
	C EC	6,835 -	1139801 -	0,020 -
RS	C EC	6,835 8,280	804569 54262	0,015 0,002
	C EC	6,817 8,217	551833 57353	0,010 0,002
	C EC	6,835 8,243	904073 54108	0,016 0,002
SB	C EC	6,842 8,268	645205 240929	0,012 0,005
	C EC	6,853 8,257	649858 256199	0,012 0,004
	C EC	6,848 8,257	652567 246890	0,012 0,004
TN	C EC	6,835 8,238	681679 80996	0,012 0,002
	C EC	6,788 8,212	993507 73425	0,018 0,002
	C EC	6,788 8,200	714889 56483	0,013 0,002
TRI	C EC	6,818 8,220	627779 116003	0,012 0,002
	C EC	6,843 8,242	428549 102234	0,008 0,002
	C EC	6,805 8,228	433870 121341	0,008 0,003
REG	C EC	6,870 8,292	560112 227284	0,010 0,004
	C EC	6,872 8,300	380698 99353	0,007 0,003
	C EC	6,867 8,295	347460 130454	0,007 0,003
	C EC	6,883 8,313	736341 71852	0,013 0,002

C19	C EC	6,870 8,307	780399 76060	0,014 0,002
	C EC	6,875 8,302	798826 77961	0,015 0,002
SYL F	C EC	6,828 8,232	755915 228205	0,014 0,004
	C EC	6,813 8,235	754218 189151	0,014 0,004
	C EC	6,873 8,253	1123964 180675	1,319 0,004
SYL M	C EC	6,828 8,248	1172816 63022	0,021 0,002
	C EC	6,822 8,240	1031582 66060	0,018 0,002
	C EC	6,815 8,252	885546 63031	0,016 0,002
CHAM	C EC	6,863 8,287	264002 69861	0,006 0,002
	C EC	6,857 8,292	251582 82951	0,005 0,002
	C EC	6,845 8,255	250449 72666	0,005 0,002
JPB	C EC	6,835 8,258	318891 65344	0,006 0,002
	C EC	6,823 8,252	454667 61716	0,009 0,002
	C EC	6,783 8,212	314672 67321	0,006 0,002
ROT	C EC	6,813 -	97875 -	0,003 -
	C EC	6,807 -	83076 -	0,003 -
	C EC	6,818 -	102056 -	0,003 -
RIP	C EC	6,837 -	161409 -	0,004 -
	C EC	6,827 -	151865 -	0,004 -
	C EC	6,847 -	162310 -	0,004 -
	C EC	6,848 -	270338 -	0,006 -

RV	C EC	6,848 -	296567 -	0,006 -
	C EC	6,843 -	272867 -	0,006 -
BER	C EC	6,855 8,275	275932 59082	0,006 0,002
	C EC	6,858 8,277	309641 59806	0,006 0,002
	C EC	6,857 8,272	310711 63956	0,006 0,002
CAN	C EC	6,860 8,278	611677 120041	0,011 0,003
	C EC	6,865 8,277	702937 136271	0,013 0,003
	C EC	6,872 8,280	709334 129611	0,013 0,003